Archiv

für

Protistenkunde

begründet von

Dr. Fritz Schaudinn

herausgegeben

von

Dr. M. Hartmann und **Dr. S. von Prowazek**
Berlin Hamburg.

Sechzehnter Band.

Mit 25 Tafeln und 95 Textfiguren.

JENA.
Verlag von Gustav Fischer
1909.

Inhaltsübersicht.

Erstes Heft.

Zweites Heft.

Drittes Heft.

Über Erscheinungen fettiger Degeneration bei tripyleen Radiolarien.

Ein Beitrag zur Pathologie der Protistenzelle.

Von
A. Borgert (Bonn).

(Mit Tafel I und 4 Textfiguren.)

Bei meinen an *Aulacantha scolymantha* HAECKEL angestellten Untersuchungen über die Fortpflanzung der tripyleen Radiolarien (1900 und 1909) begegneten mir eine Zeitlang gar nicht sehr selten in eigentümlicher Weise veränderte Individuen der genannten Tierart. Die Besonderheit, durch die sich die betreffenden Exemplare auszeichneten, bestand in dem Vorhandensein blasenartiger Bildungen von rundlicher oder ausgesprochen kugeliger Gestalt, deren die Centralkapsel des Radiolars entweder eine oder mehrere umschloß. War zur Fixierung des Materials FLEMMING'sche Flüssigkeit oder ein anderes osmiumhaltiges Gemisch verwendet worden, wie es im Anfang der Untersuchungen fast ausschließlich geschah, so fand man im Innern der erwähnten Blasen zahlreiche, durch die Wirkung der Osmiumsäure gebräunte oder schwarz gefärbte, kleine Kügelchen. Die Einschlüsse der Centralkapsel gaben den betreffenden Stücken ein derartig charakteristisches Aussehen, daß sie bei der Auslese des im übrigen ungefärbten Materials stets das Auge sofort auf sich lenkten.

Einen wesentlich anderen Anblick gewährten dagegen die mit Einschlüssen der erwähnten Art versehenen Aulacanthen, als ich späterhin wegen verschiedener Vorteile, die die Änderung der Fixie-

rungsmethode bot, zur Anwendung eines Gemisches von Sublimatlösung und Eisessig sowie zur Vorfärbung des gesamten Materials in verdünntem Salzsäurekarmin überging. In diesen Fällen hoben sich die Blasen als solche zwar meist recht deutlich von dem übrigen Inhalt der Centralkapsel ab, es fehlten dann aber in ihrem Innern die Kügelchen.

Schon das Verhalten der letzteren den verschiedenen Reagentien gegenüber, ließ keinen Zweifel darüber bestehen, daß hier eine fettartige Substanz vorliegen müsse.

Wenngleich auch bei den mit Eisessigsublimat fixierten Tieren die Veränderungen des Körpers im übrigen noch deutlich genug hervortraten, so daß es ein leichtes war, die mit den erwähnten blasenartigen Bildungen behafteten Individuen unter der Menge der anderen herauszufinden, so wurden doch im Verlaufe der weiteren Untersuchungen nur noch wenige derartige Fälle beobachtet. Offenbar hatte gerade eine Periode reichlicheren Auftretens der blasenartigen Differenzierungen bestanden, die bald nach Beginn der Untersuchungen ihrem Ende entgegenging. Erwähnt sei, daß ich zu der Zeit, da die Funde noch reichlicher waren, auch ein paar lebende Aulacanthen mit blasenartigen Einschlüssen zu Gesicht bekam. Wegen Mangels an geeignetem Material fehlte mir später die Möglichkeit, die ersten Beobachtungen am frischen Objekt noch zu ergänzen und zu untersuchen, ob sich innerhalb der Zeit, während der sich das Tier am Leben erhalten ließ, weitere Veränderungen irgend welcher Art bemerkbar machen würden.

Anfangs hatte ich vorübergehend wohl geglaubt, daß es sich in unserem Falle um eine besondere, zu der Schwärmerbildung in Beziehung stehende Form der Fortpflanzung, vielleicht auch um die Entstehung einer Art von Dauerzuständen handeln könne. Der Gedanke lag nicht allzu fern. Sobald ich aber zur genaueren Untersuchung, namentlich an Schnittpräparaten, schritt, erkannte ich bald, daß sich diese Annahme nicht aufrecht erhalten ließ.

Die Betrachtung unseres Objektes in toto zeigt je nach der Zahl und der Lage der vorhandenen Blasen ein wechselndes Bild. In Textfig. A habe ich zunächst zum Vergleich die centrale Körperpartie einer *Aulacantha* dargestellt, die keinerlei Veränderungen der erwähnten Art aufweist. Man sieht die Centralkapsel mit dem großen bläschenförmigen Kern in ihrem Innern und einen Teil der die Centralkapsel an der oralen Seite umhüllenden Phäodiummassen. Von den hohlen im Phäodium zusammenlaufenden Radialstacheln sind nur die proximalen Abschnitte dargestellt; die im äußeren Teile

mit kleinen Zähnen besetzten Distalenden sind samt dem Mantel aus feinen Tangentialnadeln sowie den protoplasmatischen Bestandteilen des Extracapsulariums in der Zeichnung fortgelassen

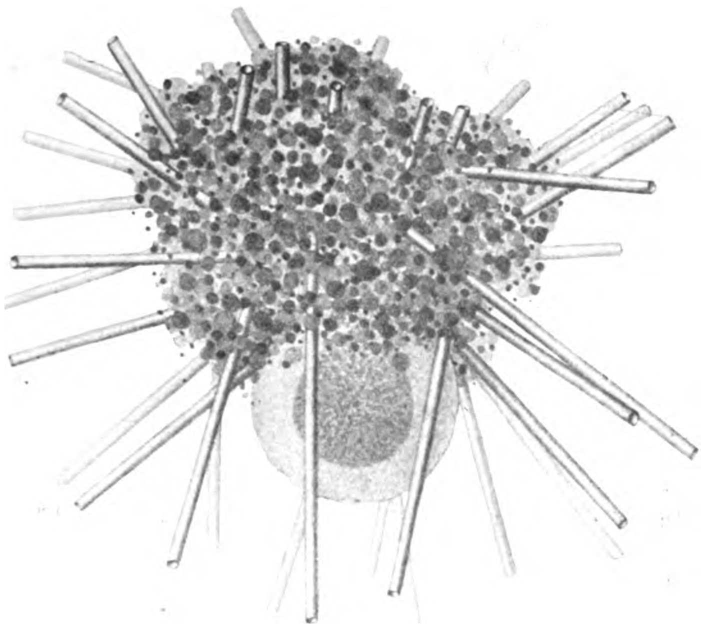


Fig. A.
Strukturverhältnisse bei einem normalen Individuum von *Aulacantha scolymantha* Centralkapsel mit ruhendem Kern. Vergr. 185 fach.

Die nächste Abbildung, Textfig. B, gibt die entsprechenden Teile des Körpers eines anderen Individuums wieder. In diesem Falle ist eine einzelne große Blase mit Fettkügelchen vorhanden, die central gelegen, die Stelle des Kernes in der Kapsel einnimmt. Eine einzelne etwas kleinere Blase zeigt auch die in Fig. 1, Taf. I wiedergegebene Centralkapsel, bei der von extracapsularen Bestandteilen nur ein Häufchen von Phäodellen mit zur Darstellung gelangte. Bei diesem Tiere liegt die Kugel mit Fetteinschlüssen excentrisch in der aboralen Hälfte der Centralkapsel. Auf das Verhalten des Kernes in diesem und den anderen Fällen werde ich weiter unten, wo ich über das Ergebnis der Untersuchung von Schnittpräparaten berichten werde, zurückkommen.

Von Exemplaren mit mehreren Blasen habe ich in Textfig. C ein solches mit fünf derartigen Gebilden in der Centralkapsel wiedergegeben. Die Blasen sind ziemlich regelmäßig verteilt und man be-

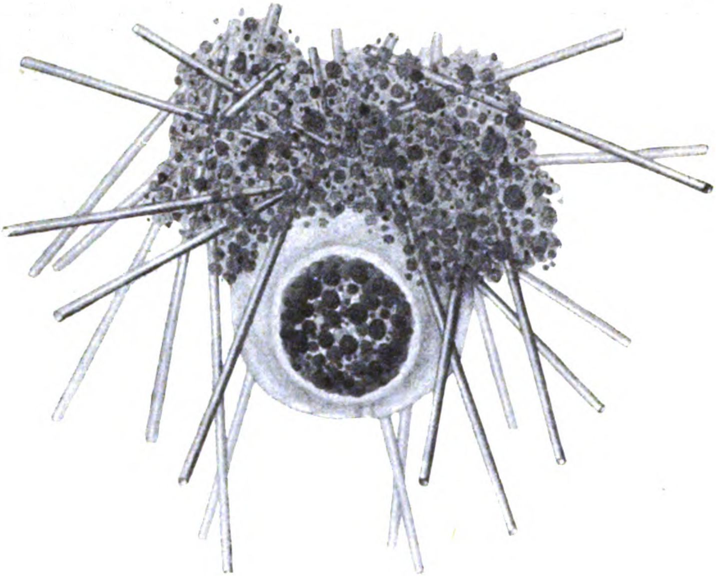


Fig. B.
An Stelle des Kernes eine Blase mit Fettkügelchen. Vergr. 185 fach.

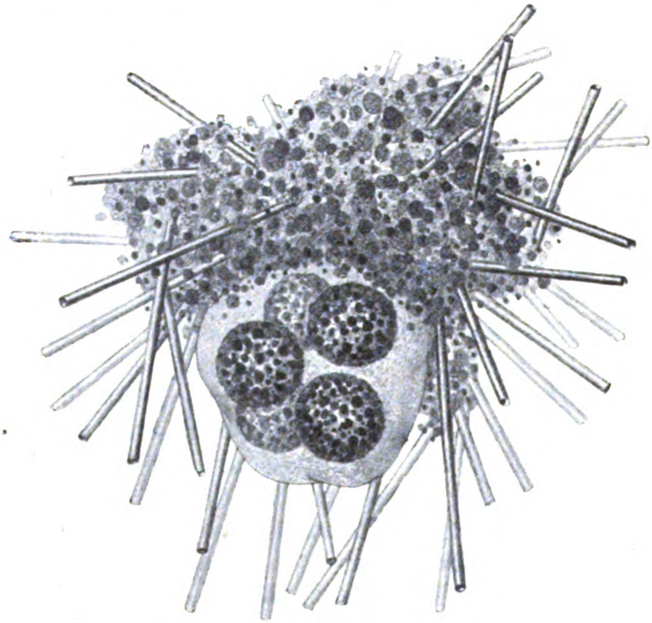


Fig. C.
Centralkapsel mit fünf Blasen. Vergr. 185 fach.

merkt, wie unter ihrem Einfluß die äußere Hülle der Centralkapsel stellenweise buckelartige Vorwölbungen erhalten hat.

Eine noch größere Zahl von Einschlüssen der in Rede stehenden Art läßt die Centralkapsel erkennen, die ich in Textfig. D zur Darstellung gebracht habe. Hier zählt man nicht weniger als zwölf Blasen. Mit der Zunahme ihrer Zahl sehen wir eine Abnahme in der Größe Hand in Hand gehen, andererseits hat aber auch das Wachsen ihrer Menge eine Vergrößerung des Centralkapselumfanges im Gefolge.

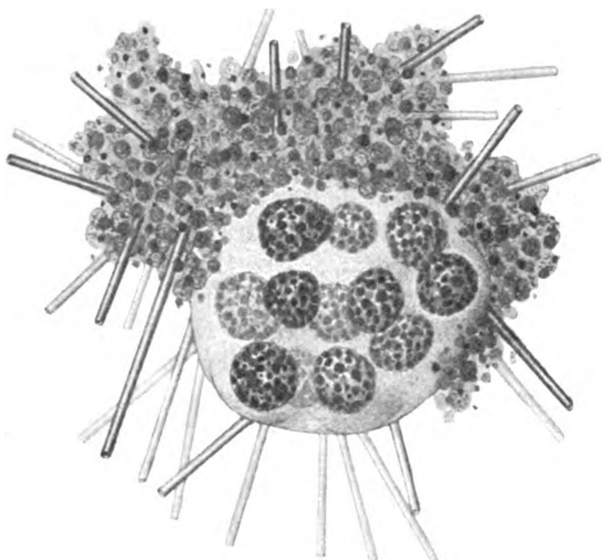


Fig. D.
Zwölf Blasen mit Fettkügelchen im Innern der Centralkapsel. Vergr. 185 fach.

Von anderen Funden solcher Art seien noch die bereits erwähnten lebend beobachteten Aulacanthen erwähnt. In dem einen Falle war eine große centrale Blase vorhanden, das andere Exemplar wies deren zwei auf. Das letztere Stück war dadurch interessant, daß die Veränderungen augenscheinlich an einer in Vorbereitung zur Teilung begriffenen *Aulacantha* eingetreten waren. Die beiden Blasen lagen an der Stelle der beiden nur durch einen schmalen Spalt getrennten, durch direkte Teilung des Mutterkernes entstandenen Tochterkerne und hatten auch die Größe und Gestalt der letzteren. Leider ging mir dies zweite Individuum durch einen unglücklichen Zufall verloren, ehe ich es genauer hatte untersuchen können.

Ich habe mich im vorstehenden auf die Schilderung einiger spezieller Fälle beschränkt und muß noch erwähnen, daß die Menge der Blasen eine durchaus wechselnde ist, daß auch alle möglichen Zwischenzahlen angetroffen werden, sowie daß ich gelegentlich noch weit mehr als zwölf Blasen in einer Centralkapsel beobachtet habe.

Im Hinblick auf die im Innern der Blasen sich findenden Fettkügelchen ist zu bemerken, daß man dieselben in einer einfachen peripheren Schicht angeordnet sieht, die eine Kugelschale nahe der Blasenwandung bildet. Meist liegen die einzelnen Teilchen nicht derartig dicht gedrängt, daß sie sich berühren, sondern sie sind durch Lückenräume voneinander getrennt. Die isolierten Fettkügelchen erscheinen dann infolge einer gewissen Ungleichmäßigkeit der Verteilung nicht selten hier und da zu irregulären Gruppen zusammengelagert.

Das eben Gesagte gilt jedoch in erster Linie für die größeren Blasen. In kleineren Blasen finden sich die Fettkügelchen oft so eng beieinander, daß der innere Hohlraum durch sie auf ein Geringes beschränkt erscheint (Taf. I, Fig. 1) und sie selbst nicht selten durch die gegenseitige Berührung und Abflachung eine unregelmäßige polyedrische Gestalt angenommen haben (Fig. 15). In einem Falle fand ich sogar — allerdings nicht bei einer *Aulacantha*, sondern bei der Centralkapsel einer Caementellide [1]) — statt der Blasen mit einzelnen Kügelchen drei einheitliche große Öl- oder Fetttropfen vor, eine auffallend umfangreiche und zwei von ihr getrennt im Endoplasma liegende kleinere Kugeln.

Ein anderes Mal (siehe Fig. 14 auf Taf. I) war die Fettmasse zwar auf eine periphere Schicht im Innern der Blase beschränkt, aber die einzelnen Teilchen waren auch hier so dicht gelagert, daß sie sich gegenseitig abplatteten und eine mehr oder minder zusammenhängende Masse bildeten.

Für gewöhnlich, d. h. in allen den Fällen, wo die einzelnen Fettteilchen eine isolierte Lage haben, sind sie von runder oder ein wenig länglicher Gestalt, seltener besitzen sie eine unregelmäßige, mehr eckige Form; unter solchen Umständen sieht es auch manchmal so aus, als ob sie sich aus mehreren kleineren zusammengeballt hätten. Die Größe der Fettkügelchen ist nicht nur bei den einzelnen Individuen verschieden, auch in derselben Blase liegen größere und

---

[1]) Über diese von mir neu aufgestellte Radiolarienfamilie vgl. Teil II. meiner Untersuchungen über die Fortpflanzung der Tripyleen. Arch. f. Protistenk. Bd. 14 Heft 2, S. 204 ff.

kleinere neben- und durcheinander. Wenn auch oftmals die größeren Blasen gleichzeitig die größeren Fettkügelchen enthalten, so trifft dies doch nicht ausnahmslos zu und nicht selten findet man gerade in kleinen Blasen besonders große Fettkügelchen. Meistens schwankte der Durchmesser der größeren Kügelchen in den einzelnen Blasen zwischen 6 und 10 oder auch zwischen 10 und 15 μ. Die größten bei *Aulacantha* von mir gemessenen Fettkügelchen besaßen einen Durchmesser von 25 μ, die kleinsten hatten das Aussehen minimaler Körnchen.

An frischem Material erscheinen die Fettkügelchen hell und stark lichtbrechend. Der Grad der Schwärzung, die die Kügelchen durch Osmiumsäure erleiden, zeigt, wie schon erwähnt, gewisse Unterschiede. Ich sah solche, die pechschwarz erschienen, fand in anderen Fällen aber nur eine Bräunung der Masse, wobei auch noch wieder in weiteren Grenzen Abstufungen in der Intensität beobachtet wurden. Wenn man den Grund für diese Verschiedenheit nicht in einer nicht immer gleich langen Einwirkungsdauer der Fixierungsflüssigkeit suchen will, so wird man wohl als Ursache eine wechselnde Beschaffenheit der Fettsubstanz selbst annehmen müssen.

In einzelnen Fällen, wie dies Fig. 17 auf Taf. I zeigt, sah ich an der Oberfläche der Fettkügelchen eine dunkle Hüllschicht differenziert, die durch eine hellere Zone von der centralen Hauptmasse getrennt war, doch handelte es sich, wie die weiteren Untersuchungen zeigten, nicht etwa um eine eigentliche Membran oder um eine Überkleidung der Fettkügelchen mit einer Protoplasmaschicht. Manchmal auch waren die Fettkügelchen von mehr oder minder reichlichen Vacuolen durchsetzt (vgl. Taf. I, Fig. 16). Augenscheinlich hat man es bei dieser Gelegenheit mit kleinen von der Fettsubstanz umschlossenen Flüssigkeitströpfchen zu tun.

Wenngleich es bei den hier geschilderten Erscheinungen als Regel gilt, daß das Fett in blasenartigen Hohlräumen zusammengelagert und so auf einzelne Stellen im Innern der Centralkapsel beschränkt ist, so sah ich andererseits doch einmal auch eine mehr diffuse Verteilung des Fettes. Außerhalb der in geringer Zahl vorhandenen mit Fettkügelchen erfüllten Blasen fand ich diese Substanz auch noch in Gestalt minimaler Körnchen frei und unregelmäßige Ansammlungen bildend durch das Endoplasma verteilt. In Fig. 15 habe ich eine Protoplasmapartie mit einer einzelnen Blase und zahlreichen solchen kleineren Fettkörnchen im Bilde wiedergegeben. Es mag sein, daß wir es hier mit der Entstehung neuer Blasen zu tun haben, für deren Fettkügelchen eine Bildung durch

Vereinigung mehr oder minder zahlreicher kleiner Körnchen angenommen werden könnte.

Die weitere Frage, ob das Fett an ein Substrat gebunden ist, etwa wie es bei den Elaioplasten der Pflanzen oder, um ein näher liegendes Beispiel zu wählen, bei der Ölkugel der Sphärozoëen der Fall ist, läßt sich dahin entscheiden, daß irgendeine Grundsubstanz, die dem Fett als Unterlage diente, nicht nachweisbar ist. Bei dem Alkoholmaterial, das mit Eisessigsublimat fixiert war, vermißt man die Fetteinschlüsse gänzlich, sie sind in Lösung geraten, ohne dabei irgendwelche Restsubstanzen zurückzulassen. So findet man denn bei derartig behandelten Individuen jeweils nur eine oder auch mehrere blasenartige Bildungen im Innern der Centralkapsel, die geformte Einschlüsse jedoch vollkommen vermissen lassen.

Überraschen muß es übrigens, daß unter dem umfangreichen Tripyleenmaterial der Plankton-Expedition, das durch meine Hände gegangen ist, mir nicht ein einziges Exemplar zu Gesicht kam, das Veränderungen der in Rede stehenden Art gezeigt hätte.

Was nun die weiteren Einzelheiten, vor allen Dingen das Verhalten des Kernes und des Protoplasmas betrifft, so will ich bei der Schilderung der Veränderungen, denen der Weichkörper von *Aulacantha* durch das Auftreten der blasenartigen Bildungen unterliegt, von einem Falle ausgehen, der die ursprünglichen Verhältnisse des Baues der Centralkapsel noch relativ wenig beeinträchtigt zeigt. Auf einen derartigen einfachen Fall beziehen sich Fig. 2 u. 3 der Taf. I. Erstere gibt die Totalansicht einer Centralkapsel mit einer einzelnen im oralen Teil gelegenen, aus der Richtung der Hauptachse seitlich verlagerten Blase wieder. Infolge ihrer Auflösung durch die angewandten Reagentien fehlen hier die Fettkügelchen. Fig. 3 zeigt einen Schnitt durch eine in ganz ähnlicher Weise veränderte Centralkapsel. Die Schnittrichtung wurde so gewählt, daß sie gleichzeitig durch die Mitte des Kernes und der in der Zeichnung oberhalb desselben sichtbaren Blase ging. Bei diesem Exemplar sind dagegen die Fetteilchen erhalten geblieben.

Wir sehen, wie der Kern durch das Auftreten der Blase eine Einbuchtung erlitten hat, er hat die Form eines eingedrückten Gummiballes angenommen und in der schüsselartigen Vertiefung liegt, durch eine Protoplasmaschicht von der Kernwandung getrennt, die Blase mit den Fetteinschlüssen. Auf der entgegengesetzten Seite schieben sich ebenfalls Protoplasmamassen zwischen Kapselmembran und Blasenwand ein, so daß letztere rings vom Endoplasma umschlossen ist.

Der Kern zeigt, abgesehen von der Formveränderung, noch das charakteristische Aussehen des Ruhezustandes: radiär gerichtete Chromatinzüge, die von einer dichteren und feiner verteilten Masse im Centrum auslaufen. Die Kernmembran ist wie sonst als feines Häutchen sichtbar. Auch das Endoplasma läßt noch keine wesentlichen Veränderungen erkennen. In der Umgebung der Blase erscheint es etwas dichter, die Vacuolen sind in diesem ganzen Teil von geringerer Größe als auf der der Blase abgewandten Außenseite des Kernes. Dort bemerkt man große, eng gelagerte Vacuolen, die — wohl unter der Einwirkung des Fixierungsmittels — stellenweise zu ausgedehnteren Spalträumen zusammengeflossen sind. Die das Endoplasma umschließende Kapselmembran weist die gewöhnliche Stärke auf und auch die Öffnungen, von denen die Astropyle in Fig. 2 am oralen Pole sichtbar ist, zeigen keinerlei Unterschiede in ihrem Aussehen gegen sonst. Außer dem Vorhandensein der Fettblase und der dadurch bedingten Deformierung des Kernes lassen sich also keinerlei wichtigere Veränderungen in der Struktur der Centralkapsel konstatieren.

Bezüglich der Blase selbst ist noch zu bemerken, daß sie gegen das umgebende Protoplasma durch eine derbe, sich mit den verschiedensten Farbstoffen intensiv färbende Membran abgeschlossen ist. Von protoplasmatischen Bestandteilen ist im Innern der Blase nichts zu entdecken.

Ganz ähnliche Verhältnisse treffen wir bei dem Individuum, dem der in Fig. 4 abgebildete Schnitt entstammt, nur, daß die Centralkapsel dieser *Aulacantha* zwei Fettblasen statt einer enthält. Sie finden sich ungefähr in der Äquatorialebene, ein wenig nach der aboralen Hälfte verlagert, einander gegenüber, die eine auf der einen, die andere auf der anderen Seite des Kernes. Wir sehen auch hier wieder in der nächsten Umgebung der Blasen eine Schicht von vacuolenfreiem Protoplasma, das in dem gefärbten Präparat eine leichte Aufhellung im Vergleich mit der Hauptmasse des Endoplasmas erkennen läßt. Die Blasen selbst sind kleiner als in dem vorigen Falle und die sie äußerlich abschließende Membran ist feiner als dort, dafür sind sie aber um so dichter mit Fettkügelchen erfüllt.

Der Kern der *Aulacantha* hat hier ebenfalls eine Gestaltsveränderung erfahren, er ist abgeflacht und zeigt an der Stelle, wo die beiden Blasen liegen, eine durch den zweiseitigen Druck hervorgerufene starke Einschnürung. Die Struktur ist, soweit sie nicht durch die Deformierung beeinträchtigt ist, noch die gleiche, wie man

sie an dem ruhenden *Aulacantha*-Kerne anzutreffen gewohnt ist. Der abgebildete Schnitt gibt außerdem aber auch noch Auskunft über den Zustand der Öffnungen; die Astropyle ist noch unversehrt, ebenso die beiden Parapylen, von denen die eine am rechten unteren Rande der Figur sichtbar ist. Auch die strahlige Anordnung der Protoplasmateilchen in der Umgebung des Bulbus der Nebenöffnung tritt recht deutlich in die Erscheinung.

Wesentlich anders liegen die Dinge in dem Falle, der in Fig. 5 zur Darstellung gebracht ist. Die Blasen sind klein, aber in beträchtlicher Zahl vorhanden. Auf einzelne Strecken hin ist das Endoplasma zwar frei von solchen Bildungen, an anderen Stellen liegen die Blasen dagegen in so dichter Menge beisammen, daß sie sich teils berühren, teils nur durch dünne Schichten von Protoplasma voneinander getrennt erscheinen. Von dem Kern sind nur noch Überbleibsel vorhanden. Er bietet das Bild einer großen Vacuole, in deren Innern man spärliche Mengen einer krümelig-faserigen Masse erblickt. Der auch jetzt noch erhaltenen Membran angelagert, gewahrt man in einigen wenigen Schnitten noch ein kleines, etwas dichteres Kügelchen, augenscheinlich Reste der ursprünglich so reichlich vorhandenen chromatischen Substanz, allein, alle diese Überbleibsel des Kernes lassen in ihrer Struktur und vor allem in ihrem Verhalten Farbstoffen gegenüber deutliche Anzeichen des Zerfalls erkennen.

Das gleiche gilt auch von den Massen des Endoplasmas. Hier und da hat es noch ein etwas dichteres Gefüge, dazwischen sieht man aber größere und kleinere, zum Teil sogar recht ausgedehnte Inseln, wo es stark aufgelockert und zu einer mehr körnig erscheinenden Materie umgewandelt ist. Ebenso sind auch die Kapselöffnungen bis auf kaum noch bemerkbare Reste zerfallen.

Wo die Entartung noch weiter fortgeschritten ist, findet man vom Kern überhaupt nichts mehr vor. So ist beispielsweise bei dem Exemplar, aus dessen Centralkapsel Fig. 6 einen medianen Schnitt wiedergibt, der Kern spurlos untergegangen. Es sind hier im ganzen sechs größere Blasen entwickelt; von ihnen sind auf dem dargestellten Schnitt vier sichtbar, jede derselben ist von einer kräftigen Membran umschlossen. Es ist auch nur noch ganz weniges und stark in Zerfall begriffenes Protoplasma vorhanden, das die Zwischenräume zwischen den Blasen notdürftig ausfüllt. Von den Öffnungen ist jetzt keine Spur mehr übrig und die Membran der Centralkapsel erscheint als ein weiter, schlaffer Sack, der allein noch das Auseinanderfallen der Teile verhindert.

Ich habe bisher ausführlicher nur von denjenigen Fällen gesprochen, in denen die blasenartigen Gebilde außerhalb des Kernes, im Endoplasma auftreten. Wie ich schon bemerkte, kann aber auch der Kern selbst und zwar in seiner vollen Größe in gleicher Art verändert werden. Ich verweise in dieser Beziehung auf die bereits erwähnte Textfig. B, die an Stelle des Kernes eine mächtige Blase mit Fettkügelchen in ihrem Innern zeigt.

Untersuchen wir die Verhältnisse des feineren Baues genauer, so gewahren wir hier hinsichtlich der Beschaffenheit der Blase resp. ihres Inhaltes gewisse Unterschiede gegenüber den vorstehend geschilderten Fällen. Dort fanden wir die Blase von einer mehr oder minder dicken Wandung umschlossen, im Innern aber nur Fettkügelchen, keine protoplasmatischen Bestandteile. Soweit der Hohlraum nicht durch die Fetteilchen beansprucht wird, ist er bei dem lebenden Tier offenbar von einer wässerigen Flüssigkeit erfüllt; an den Schnittpräparaten ist das Lumen vollkommen frei, man sieht keinerlei Gerinnselbildungen oder Niederschläge irgendwelcher Art. Wo die Blase die Stelle des Kernes einnimmt, treffen wir in ihrem Innern dagegen außer den Fettkügelchen wenigstens geringe Quantitäten protoplasmatischer Substanz an; es sind noch gewisse Überbleibsel des zugrunde gegangenen Kernes vorhanden. Sie erscheinen in der Gestalt eines kleinen kugeligen Restkörpers, der noch etwas stärker färbbar und in eine minimale Plasmamenge eingebettet, sich irgendwo der inneren Blasenwandung angelagert findet. Ich habe derartige Kernreste überall bei den mit Eisessigsublimat fixierten Individuen beobachtet. Wenn die Fetteilchen gelöst waren, vermochte man bei den in Rede stehenden Zuständen sowohl an Totalpräparaten wie an Schnitten stets mit Leichtigkeit die kleine wandständige Kugel zu erkennen. Man sieht dieselbe in den Figuren 10 u. 12, von denen die letztere eine ganze Centralkapsel zeigt, während erstere einen Schnitt im Bilde wiedergibt. Wo Flemming'sche Flüssigkeit angewandt worden war, konnte unter den dunklen Fettkügelchen das erwähnte Gebilde eher der Beobachtung entgehen.

Daß es sich hierbei wirklich um nichts anderes als um Restteile der Kernsubstanzen handelt, steht außer Frage; man findet ganz gleiche Gebilde auch bei dem Zerfall des Kernes in denjenigen Fällen, wo sich diese Erscheinung unter dem Einfluß der im Endoplasma auftretenden Fettblasen vollzieht. Ich mache dabei auf Fig. 5 aufmerksam, die innerhalb des in der Auflösung schon weit fortgeschrittenen Kernes, der Membran ganz nahe liegend, ebenfalls ein Kügelchen der geschilderten Art aufweist. Bei diesem Exemplar

waren noch auf ein paar anderen Schnitten solche Restkörperchen anzutreffen, sie waren zum Teil durch Vacuolen aufgelockert, hatten aber immer eine periphere Lage. Wo bei Schwund des Kernes ein kleines Quantum Protoplasma zurückgeblieben ist, das den Restkörper umgibt, läßt dieses an seiner etwas erhöhten Färbbarkeit erkennen, daß es auch wohl noch Spuren chromatischer Substanz enthält.

Zu der erwähnten Erscheinung, daß bei Umwandlung des Kernes in eine Fettblase die letztere außer den Fettkügelchen auch noch gewisse Überbleibsel der Kernsubstanzen umschließt, kommt eine andere Besonderheit dieser Zustände hinzu: die Blase ist in solchen Fällen nicht von einer einfachen, sondern von einer doppelten Membran umgeben. Diese Strukturverhältnisse treten schon an den Totalpräparaten zutage, sind jedoch mit größerer Deutlichkeit an Schnitten zu beobachten; die hier meist bestehenden größeren Schrumpfungen tragen nur dazu bei, die Sachlage noch klarer zu machen.

Betrachten wir beispielsweise Fig. 7, die einen derartigen Schnitt darstellt, so sehen wir im Mittelpunkt des Bildes die Blase mit ihren zahlreichen, großen und kleinen Fettkügelchen. Ihre Wandung wird von einer kräftigen Membran gebildet. In einigem Abstand folgt nach außen zu eine zweite stark tingierbare Hülle, die viel derber als die ersterwähnte Blasenwandung ist. Diese Verhältnisse erklären sich aus den besonderen Entstehungsbedingungen. Offenbar haben wir in der inneren Schicht die Kernmembran vor uns. Sie ist hier dicker als sonst, wozu jedoch der Zustand stärkerer Contraction zum Teil mit beitragen mag. Die äußere Schicht entspricht der Blasenwandung, wie wir sie in den weiter oben geschilderten Fällen antrafen. Wie dort, so ist sie auch hier ein Produkt des umgebenden Protoplasmas.

Zwischen den beiden Wandungen fand ich, und zwar sowohl bei Exemplaren, die mit Eisessigsublimat fixiert waren (Fig. 9), als auch nach Anwendung Flemming'scher Flüssigkeit (Fig. 7) einen oder ein paar glasartig klare, stark lichtbrechende Körperchen von rundlicher oder länglicher, gekrümmter Gestalt. In ihrem Innern konnte man gelegentlich eine Art von Schichtung oder ein verdichtetes Centrum bemerken. Ich habe ein paar Gebilde dieser Art bei etwas stärkerer Vergrößerung in Fig. 11 zur Darstellung gebracht. Wo die beiden Hüllschichten der Blase dicht zusammenlagen, war die innere feinere Membran unter der Wirkung dieser Einschlüsse deutlich vorgewölbt (Fig. 9). Es wird sich bei diesen Körpern vermutlich um irgendwelche geformte Umwandlungsprodukte der zu-

grunde gegangenen Substanzen handeln und man möchte vielleicht an Bildungen denken, die in gewisser Hinsicht den Glanzkörpern von *Pelomyxa* vergleichbar wären (siehe GOLDSCHMIDT 1905, S. 129 u. 130). Sie können jedoch nicht mit den vorhin erwähnten Kernresten in nähere Beziehung gebracht werden; sowohl durch ihr Aussehen, als auch durch ihre Lage zwischen den Blasenhüllen dokumentieren sie sich als etwas Besonderes.

Mit dem Schwunde des Kernes geht aber auch in diesen Fällen ein Zerfall des Endoplasmas Hand in Hand. Die Erscheinungen der Auflösung sind schon an Totalpräparaten zu erkennen, so beispielsweise bei Textfig. B. Man sieht, wie stellenweise das Protoplasma eine durchsichtigere Beschaffenheit angenommen hat; in den dichteren Massen bemerkt man Flecken von hellerem, lockererem Aussehen, gleichzeitig gewährt die Kapselmembran einen schlaffen und gefältelten Anblick.

Noch deutlicher im einzelnen treten die Anzeichen der Entartung an Schnittpräparaten zutage. Ich verweise hierbei auf die schon erwähnte Fig. 7, wo allerdings der Auflösungsprozeß noch etwas weiter als bei dem in Textfig. B dargestelltem Exemplar fortgeschritten ist. Die Substanz des Endoplasmas ist stark aufgelockert, seine Menge außerdem bereits so weit geschwunden, daß es zwischen den zahllosen großen Vacuolen nur noch Wände von relativ geringer Dicke bildet und an den konservierten Individuen weite Lücken zwischen den kontrahierten Plasmamassen und der umgebenden Kapselmembran klaffen. Auch die feinere Struktur des Endoplasmas erscheint auffallend verändert, es sieht grob, fast körnig aus. Natürlich werden bei diesen Veränderungen ebenfalls die Kapselöffnungen in Mitleidenschaft gezogen; die charakteristischen Differenzierungen am oralen Pol und an der aboralen Kapselhälfte schwinden sehr bald mit dem Fortschreiten der Zerfallsvorgänge.

Im weiteren Verlaufe der Erscheinungen sehen wir nun die Plasmamenge immer mehr zurückgehen und gleichzeitig bemerken wir, wie auch die Kapselmembran in Auflösung gerät. Ein derartiger späterer Zustand ist in den Schnittbildern 9 u. 10 zur Darstellung gebracht. Von dem Endoplasma ist in diesem Falle nur noch ein spärlicher Rest übrig, der eine dünne, nur an einzelnen Stellen gelinde Verdickungen und unregelmäßige Fortsätze aufweisende Hüllschicht an der Oberfläche der Blase darstellt; statt der derben, doppelt konturierten Kapselmembran bildet ein feines, kaum wahrnehmbares Häutchen die äußere Überkleidung der Protoplasmamasse. Schließlich schwinden aber auch noch diese letzten Überbleibsel und

dann liegt die doppelwandige Fettblase frei im Innern des Skeletraumes. Derartige Zustände finden sich in Fig. 8 u. 12 wiedergegeben. Das erstere Bild zeigt eine isolierte Blase, die von einem mit Osmiumsäure behandelten Individuum herrührt. Die innere Hüllschicht, die die geschwärzten Fettkügelchen umschließt, hat sich zu einer etwas kleineren Kugel kontrahiert. In Fig. 12 haben wir eine andere von einem mit Eisessigsublimat fixierten Exemplar stammende Blase mit den umgebenden Phäodiummassen vor uns. Die Fettkügelchen im Innern sind verschwunden, die beiden Blasenwandungen liegen fest zusammen.

Es war bisher nur von Veränderungen die Rede, die sich an den Bestandteilen der Centralkapsel vollziehen, ich habe nun noch zu erwähnen, daß auch das Ectoplasma nicht verschont bleibt und daß sich an diesem ganz ähnliche Umwandlungen beobachten lassen, wie ich sie für das Endoplasma und den Kern beschrieb. Auch im Ectoplasma zeigen sich gelegentlich Blasen mit Fettkügelchen. Bei der Betrachtung des ganzen Tieres entgehen sie allerdings sehr leicht der Beobachtung; zwischen den dichten und oft recht dunklen Massen des Phäodiums fallen sie selbst bei Schwärzung ihres Inhalts durch Osmiumsäure nicht sonderlich auf.

Man könnte vielleicht zu der Annahme kommen, daß das Erscheinen derartiger Gebilde außerhalb der Centralkapsel ein besonders fortgeschrittenes Stadium des ganzen Prozesses charakterisiert, daß also ein solcher Zustand sich erst dann zeigt, wenn die Blasenbildung im Innern der Centralkapsel ihren Höhepunkt erreicht hat. Das ist jedoch keineswegs richtig. Zwar habe ich Fettblasen im Ectoplasma immer nur dann beobachtet, wenn auch in der Centralkapsel welche vorhanden waren, ich fand sie aber ebensowohl bei Individuen, die nur eine Blase im Endoplasma aufwiesen, als auch dort, wo das den Kern umgebende Protoplasma dicht mit solchen durchsetzt war. Einen Fall der letzteren Art bringt Fig. 5 zur Anschauung. Der dargestellte Schnitt läßt zwischen den Massen des Phäodiums fünf Blasen mit Fettkügelchen erkennen. Sollte ich ein Beispiel dafür anführen, daß der Centralkapselinhalt noch sehr wenig verändert war, so brauchte ich nur auf das Exemplar zu verweisen, dem der in Fig. 3 dargestellte Schnitt entstammt. Das betreffende Stück zeigt nur eine einzige Blase im Endoplasma, besitzt außerdem jedoch noch mehrere in dem in der Zeichnung allerdings fortgelassenen Extracapsularium. Immerhin war es unter den mit Fettblasen versehenen Tieren nur der kleinere Teil, der

solche auch im Ectoplasma aufwies, in der Mehrzahl der beobachteten Fälle waren sie eben auf die Centralkapsel beschränkt.

Was den Bau der extracapsularen Fettblasen betrifft, so ist das sich darbietende Bild hier im wesentlichen das gleiche wie bei den im Endoplasma anzutreffenden Gebilden dieser Art. Auch im vorliegenden Falle sehen wir die Dicke der die Blase umschließenden Membran je nach dem Grad der Ausbildung innerhalb gewisser Grenzen variieren. Nur in einem Falle bemerkte ich, daß außer den Fettkügelchen, die den Inhalt der Blase bildeten, auch noch ein dicker Wandbelag aus einer homogen erscheinenden, sich mit Eosin gut färbenden Substanz vorhanden war. In diese waren die Fettkügelchen eingebettet. Ich habe eine einzelne solche Blase mit den dieselbe umgebenden Phäodellen in Fig. 13 bei etwas stärkerer Vergrößerung zur Darstellung gebracht.

Die Struktur der Fettkügelchen selbst ist überall die gleiche, mögen sie sich nun an Stelle des Kernes im Endo- oder Ectoplasma finden. Auch im letzteren Falle ist ein besonderes Substrat, an das das Fett gebunden wäre, nicht vorhanden. Die Anwendung fettlösender Reagentien bringt hier wie dort die Fettansammlungen restlos zum Verschwinden.

Wenden wir uns nun der Frage zu, welche Deutung die geschilderten Veränderungen des Tripyleenkörpers erfahren müssen, so glaube ich nicht, daß noch ein Zweifel über die Natur der Erscheinung bestehen kann.

Vielleicht möchte man zunächst daran denken, daß die Umwandlung des Kernes in eine Fettblase mit der Bildung einer Art von Dauerzustand in Beziehung zu bringen sei. Man brauchte nur anzunehmen, daß der kleine kugelige, von Protoplasma umgebene Kernrest ein funktionsfähiger Nucleus bleibt, daß die Fettkügelchen Reservestoffe darstellen oder aber auch einen Schwebeapparat bilden, der es der über kurz oder lang aus dem zerfallenden Skelet freiwerdenden Blase ermöglicht, besser als es bei dem vollständigen Tiere vielleicht der Fall sein würde, mit Hilfe der Strömungen die Art über weite Gebiete hin zu verbreiten. Allein, diese Möglichkeit könnte ernstlich doch nur in Frage kommen, wenn ausschließlich eine Umwandlung des Kernes, bzw. eines Teiles des Kernes, in Fett zu beobachten wäre. Die Tatsache, daß sich ganz entsprechende Veränderungen auch am Endoplasma vollziehen, wobei der Kern dann völlig zugrunde geht und daß selbst das Ectoplasma in solcher Weise verändert werden kann, muß uns die Vorgänge in anderem Lichte erscheinen lassen. Aus denselben Gründen werden wir, wenn

wir eben die Gesamtheit der Erscheinungen ins Auge fassen, auch von der Annahme absehen müssen, daß es sich bei der Bildung der Fettkügelchen um einen ähnlichen Vorgang wie bei der Schwärmerentwicklung der koloniebildenden Radiolarien handle, wo den sich bildenden Gameten kleine Portionen von Fett mit auf den Weg gegeben werden.

Alles in allem betrachtet, können wir nur zu der einen Deutung kommen, daß die geschilderten Vorgänge als Erscheinungen der Degeneration aufzufassen sind. Ich habe diese Ansicht bereits in der vorläufigen Mitteilung über meine Untersuchungen an *Aulacantha* (1896) zum Ausdruck gebracht, in der ich in aller Kürze auch auf die hier beschriebenen Zustände zu sprechen kam.

Die fettige Entartung des Zellplasmas ist ja eine wohlbekannte Erscheinung, die unter den verschiedenartigsten Umständen, bald als physiologischer, bald als pathologischer Prozeß auftritt. Ich erinnere an die Vorgänge bei der Milchsekretion, „wo die Epithelien der Milchdrüse ihr verfallen“ (Birch-Hirschfeld 1889, p. 44),[1]) an die Vorgänge fettiger Degeneration, die bei Säugern zur Zeit der Schwangerschaft in den dem Keim zunächst liegenden Schichten Platz greifen und mit der Ernährung des Embryo im Zusammenhange stehen,[2]) an die fettige Entartung, wie sie am Follikelepithel bei Rückbildung von Eiern auftritt. Von pathologischen Erscheinungen sei die Verfettung der Herzmuskulatur, des Nierenepithels und der Leberzellen (Phosphorleber) erwähnt.

Während in der Regel bei der fettigen Degeneration das Fett in Gestalt minimaler Körnchen in den Zellen erscheint und nur in selteneren Fällen größere, leicht zusammenfließende Tropfen beobachtet werden, ist bei *Aulacantha* die feine staubartige Verteilung des Fettes im Plasma gelegentlich der in Rede stehenden Entartungsprozesse eine seltene Erscheinung, die nur ein einziges Mal bemerkt wurde; gewöhnlich trifft man die Hauptmasse in Form größerer Kügelchen an, ja, bei einer Caementellide fand ich, wie oben erwähnt, ausschließlich ein paar mächtige Fettkugeln im Endoplasma der Centralkapsel vor.

---

[1]) Die Ansichten über die histologischen und chemischen Prozesse bei der Milchbildung sind bekanntermaßen noch durchaus geteilt. Im Zusammenhange mit den uns hier beschäftigenden Vorgängen mag eine Angabe von Steinhaus von Interesse sein, der bei der Lactation eine lebhafte Teilung der Zellkerne und eine Umwandlung der Kernsubstanz in Fett annimmt. (Vgl. Luciani 1906, p. 477.)

[2]) Nach den Untersuchungen von Kolster (1903) an der Maus.

Als Besonderheit der bei *Aulacantha* beobachteten Verhältnisse ist vor allem aber das Auftreten des Fettes in Nestern hervorzuheben, die sich durch eine Membran gegen das umgebende Plasma abschließen. Es handelt sich hier also nicht um einen allgemeinen, diffusen Entartungsvorgang, sondern um die Bildung einzelner isolierter, durch eine feste Hüllschicht sich gegen das umgebende Endoplasma abkapselnder Degenerationsherde. So führen denn die Erscheinungen zur Entstehung einer mehr oder minder großen Zahl cystenartiger, mit Fettkügelchen erfüllter Gebilde, die schließlich, wenn die durch diese Prozesse in ihren Lebensfunktionen gestörte und zugrunde gerichtete Centralkapsel in Auflösung gerät, auseinanderfallen. In die gleiche Reihe mit diesen Vorgängen sind die am Ectoplasma auftretenden Degenerationserscheinungen zu stellen. In allen diesen Fällen wird der Kern des Tieres nur indirekt in Mitleidenschaft gezogen durch die Schädigungen, die die protoplasmatischen Teile der Zelle erfahren.

Außer denjenigen Fällen, in denen unter sekundärer Degeneration des Zellkernes die Entartung ihren Anfang im Cytoplasma nimmt, kennen wir aber auch Vorgänge solcher Art, die primär vom Kern ausgehen.

Die bisher bekannten mannigfachen Fälle von Kerndegeneration, die wiederum teils physiologischer, teils pathologischer Natur sind, vollziehen sich in verschiedener Weise und unter verschiedenen Bedingungen. So sei beispielsweise auf die Bildung von Kristalloiden im Kerninnern hingewiesen, in deren Gefolge schließlich eine Vernichtung des Kernes eintritt.[1] Bei anderen Gelegenheiten beobachten wir eine Auflösung oder einen Zerfall des Kernes in der Weise, daß dieser sein Chromatin zunächst an das Cytoplasma abgibt, er selbst wird homogen, verliert seine Färbbarkeit und geht endlich samt den ausgetretenen Chromatinbröckeln mit dem Zelleib zugrunde. Derartig liegen die Dinge bei der schon erwähnten Rückbildung von Eiern und der Degeneration des Follikelepithels.[2] Des weiteren sei auch an die Umwandlung des Kernes resp. des gesamten Zellinhaltes in Drüsensekret, sowie noch an den Chromatinschwund erinnert, wie er in Verbindung mit Glykogenbildung an den Leberzellkernen Diabetischer beobachtet wurde.[3] Aus der Reihe der Protozoen im

[1]) Um nur einige der einschlägigen Angaben anzuführen, mache ich auf die Mitteilungen von List (1897), Rengel (1897), Mingazzini (1889), Hadži (1907), Sabussow (1908) aufmerksam.

[2]) Vgl. Waldeyer 1906.

[3]) Vgl. Askanazy und Hübschmann 1907.

speziellen ließen sich für die im normalen Entwicklungsgang vorkommende Kerndegeneration zahlreiche Beispiele anführen. Eine besondere Form der physiologischen Kerndegeneration bietet sich uns auch in der von R. Hertwig (1900) bei *Actinosphaerium* beobachteten Riesenkernbildung dar. Andererseits kennen wir aber auch Fälle, bei denen ähnliche Erscheinungen auf das Eindringen parasitärer Organismen zurückzuführen sind. In dieser Beziehung verweise ich nur auf die Beobachtungen von Dangeard und anderen.

Wenn ich wiederum auf meine Untersuchungen bei *Aulacantha* zurückkomme, so ist bekanntermaßen das Vorkommen von Fett- und Öltröpfchen im Protoplasma des normalen Protozoenkörpers, wie der tierischen Zelle überhaupt, eine weitverbreitete Erscheinung, dagegen ist mir keine auf Protozoen bezügliche Angabe bekannt, die uns ähnliche tiefgreifende Vorgänge fettigen Zerfalls des Plasmas zur Kenntnis brächte, wie sie bei der genannten Tripyleenart angetroffen wurden, bei der infolge der Bildung mehr oder minder zahlreicher Degenerationsherde der Organismus derartig schwer geschädigt wird, daß auch der Kern zerstört und damit das ganze Individuum vernichtet wird.

Noch auffälliger jedoch sind die Prozesse fettiger Entartung, die sich primär am Aulacanthenkern selbst vollziehen. Alle bisher beschriebenen Erscheinungen der Kerndegeneration, mag es sich nun um derartige Vorgänge im Reiche der Protisten oder um Beobachtungen an Zellen höherer Organismen handeln, bieten doch ein ganz anderes Bild, als die bei *Aulacantha* festgestellten Vorgänge der in Rede stehenden Art.

Bekannt ist die Tatsache, daß Kohlehydrate als Bestandteil des Kernes erscheinen können, und zwar speziell Glykogen, das sowohl unter normalen Verhältnissen, als auch bei gewissen Krankheitserscheinungen im Kern nachgewiesen werden konnte. Ich hob schon die Feststellung dieser Substanz in den Zellkernen der Leber hervor (Askanazy und Hübschmann 1907); ich erwähne weiter ihren Nachweis im Wabenwerk der Chromidialmassen von *Difflugia* (Zuelzer 1904) und *Arcella* (Elpatiewsky 1907), sowie im Centralkörper der Cyanophyceen (Zacharias 1900).[1]) Dagegen ist zu bemerken, daß nach Zimmermann (1896) die bisherigen Angaben über den Nachweis von Stärke im Kern auf unrichtigen Beobachtungen beruhen dürften.

[1]) Allerdings ist die Kernnatur des Centralkörpers der Cyanophyceen noch umstritten, doch vergleicht Guilliermond ihn mit dem Chromidialapparat. (Siehe Zacharias 1907.)

Auch über das Vorkommen von Fett im Zellkern liegen Notizen vor, so beispielsweise von CARNOY (1884) und von HAECKER (1908). Die von CARNOY angeführten Objekte habe ich daraufhin noch nicht nachprüfen können, was aber die von HAECKER als „Fetträubchen" bezeichneten Haufen kleiner kugeliger Gebilde im Kern der Tripyleen betrifft, so handelt es sich hierbei offenbar um die gleichen Bestandteile, die ich seinerzeit als „Paranucleinkügelchen" ansprach, dagegen zweifellos nicht um Ansammlungen von Fett.[1])

Als Umwandlungsprodukt der Kernsubstanzen bei degenerativen Prozessen sehen wir gelegentlich auch Pigment entstehen. Vorgänge dieser Art wurden von R. HERTWIG (1903) bei *Actinosphaerium* konstatiert und es wird von ihm (l. c. p. 22 Anm. 3) ebenfalls die bei Geschwülsten vorkommende Pigmentbildung hierauf zurückgeführt. Weitere einschlägige Angaben, die das intracellular entstehende Pigment als Produkt des Kernes erscheinen lassen, liegen von PROWAZEK (1907) vor.[2]) Oder aber es treten substanziell nicht näher definierte Bildungen anderer Art auf. Es ist jedoch bei solchen Erscheinungen meines Wissens bis heute in keinem sonstigen Falle die Umformung sozusagen des gesamten Kernmaterials in Fett festgestellt worden, wie sie uns bei *Aulacantha* in unzweideutiger Weise vor Augen tritt.

Im übrigen sind die Befunde an *Aulacantha* auch in anderer Beziehung noch von Interesse, haben wir doch in diesem Falle die Möglichkeit, das Verhalten einer kernlosen Zelle zu beobachten, und zwar einer Zelle, die nicht etwa durch irgendwelche äußere Eingriffe ihren Kern verloren, sondern die, sonst vollkommen unverletzt, diesen wichtigen Bestandteil ihrer Organisation eingebüßt hat.

Leider habe ich den Versuch, durch fettige Degeneration ihres Kernes beraubte Tiere weiter am Leben zu erhalten, um die späterhin eintretenden Veränderungen des Organismus zu beobachten, nicht ausführen können, und, wenn auch nicht daran zu zweifeln ist, daß schließlich ein Absterben erfolgt sein würde, so gewinnt man doch den Eindruck, daß die Zelle auch in dem enucleïerten Zustande immerhin noch längere Zeit zu vegetieren vermag. Trotz der

---

[1]) Die Schwärmer der Chytridiacee *Amoebochytrium rhizidioides* ZOPF enthalten einen amöboiden Körper, den ZOPF (1884) für den Zellkern hält. Aus seinem gelblichen Aussehen und starken Lichtbrechungsvermögen schließt ZOPF auf einen hohen Fettgehalt.

[2]) Die Ansicht, daß Pigmentkörner aus Kernteilen entstehen können, war, wie HERTWIG bereits bemerkt, auch schon durch BOHN ausgesprochen worden. — Über die möglicherweise bestehenden Beziehungen zwischen Kern und Phäodium bei den Tripyleen vgl. A. BORGERT (1909, p. 242 u. 243).

schweren Schädigungen, die der Organismus erlitten hatte, konnte der Körper des Radiolars in den äußeren Formen noch sehr wohl erhalten sein, was immerhin erwähnenswert ist, weil die kieseligen Skeletstücke, die sich als lose zusammengefügte Radialstacheln und Tangentialnadeln darstellen, durch den Zerfall des Weichkörpers sehr leicht ihren Zusammenhalt verlieren und auseinanderfallen würden.

Welche Ursachen zu den geschilderten krankhaften Veränderungen des Aulacanthenkörpers führen mögen, darüber lassen sich zurzeit höchstens Vermutungen aussprechen. Daß die Erscheinungen unter dem Einfluß irgendwelcher parasitärer Organismen zustande kommen, glaube ich nicht annehmen zu sollen, es wurde nichts beobachtet, was dieser Annahme zur Stütze dienen könnte. Eher ließe sich wohl daran denken, daß besondere Ernährungsverhältnisse, vielleicht auch Änderungen in der Zusammensetzung oder der Temperatur des Mediums zur Erklärung heranzuziehen wären. Oder aber, und das scheint mir am wahrscheinlichsten, es spielen in dieser Frage äußere Faktoren überhaupt keine Rolle, sondern wir haben es mit den Folgen von Organisationsveränderungen zu tun, die ihre Ursache möglicherweise in den Fortpflanzungsverhältnissen und in dem Versagen der regulatorischen Prozesse haben könnten, von denen ich im zweiten Teil meiner Untersuchungen über die Fortpflanzung der tripyleen Radiolarien ausführlicher sprach. Unter dieser Annahme würde es sich also um Erscheinungen handeln, in denen sich gewisse Störungen des inneren Gleichgewichtes, eine ungünstige Gestaltung des Verhältnisses der einzelnen Körpersubstanzen zueinander wiederspiegelt.

Über degenerative Veränderungen des Protistenkörpers liegen gerade aus neuerer Zeit einige beachtenswerte Angaben vor, die teils das Verhalten des Kernes, teils das Protoplasma oder ihre Beziehungen zueinander betreffen. Ich erinnere dabei an die schon erwähnten interessanten Beobachtungen, die R. Hertwig (1900) an *Actinosphaerium* im Falle des Hungerns und nach starker Fütterung der Tiere machte, an die bei Infusorienkulturen von R. Hertwig (1903), Calkins (1904), Popoff (1907) und anderen untersuchten Erscheinungen der Depression und Degeneration, an Prowazek's (1904) Mitteilung über degenerative Hyperregeneration bei Protozoen, weiter an Schaudinn's (1902) Arbeit über *Cyclospora caryolytica* Schaud., in der er näher auf gewisse an den Sporonten dieser Coccidienform sich zeigende Erscheinungen der Entartung eingeht, an die von Dangeard (1895), Gruber (1904), Penard (1905) und Doflein (1907)

bei verschiedenen Amöbenarten beobachtete, unter dem Einfluß parasitärer Protozoen zustande kommende Riesenkernbildung.

Die erwähnten Versuche und Beobachtungen haben zum Teil zu weitergehenden Schlüssen Veranlassung gegeben. R. Hertwig kam zu seiner Idee über das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma in der Zelle und trug, ausgehend von den pathologischen Veränderungen, die er bei *Actinosphaerium* festgestellt hatte, einen ganz neuen Gesichtspunkt in den Streit der Meinungen über die Entstehungsursache der Geschwulstbildungen hinein.

Ebensogut wie für das Studium der Vorgänge des normalen Zellebens, der Funktionen der einzelnen Bestandteile in der Zelle und der Erscheinungen des Stoffwechselgetriebes dürften die Protozoen für cellularpathologische Untersuchungen und Experimente ein besonders geeignetes Arbeitsmaterial darstellen. Nicht nur bietet sich hier der Vorteil, daß es sich um einzeln lebende, vollkommen unabhängige Zellindividuen handelt, auch die Lebensbedingungen lassen eine Änderung in relativ weiten Grenzen zu. Es bedarf kaum eines Hinweises auf die verschiedenen zu verwirklichenden Möglichkeiten, so die Mannigfaltigkeit, die sich hinsichtlich der Ernährung sowohl in der Menge wie der Art der gebotenen Nahrung erreichen läßt, die Wirkungen mechanischer, thermischer, elektrischer oder anderer physikalischer Mittel, die Beeinflussung der Zelle durch chemische Reagentien und die eventuelle Anwendung dieser Einflüsse in bestimmten Perioden des Lebens, vielleicht auch noch unter geeigneter Kombinierung. Endlich sei noch die künstliche Infektion mittels parasitärer Organismen verschiedener Art erwähnt. Sehr ins Gewicht fällt dabei auch, daß die Beschaffung des Materials meist keine Schwierigkeiten macht und die leicht auszuführende Züchtung die Möglichkeit bietet, die Wirkungen des Experimentes gegebenenfalls durch Generationen von Zellen hindurch zu verfolgen.

Bei der großen Wichtigkeit, die derartige Versuche nicht allein für das Verständnis der Lebenserscheinungen im allgemeinen, sondern auch im speziellen für die Pathologie haben würden, wäre es mit Freuden zu begrüßen, wenn die Protistenforschung sich in reicherem Maße, als es bisher geschehen ist, dem hier angedeuteten Untersuchungsgebiete zuwenden würde. Ebenso ist es im Interesse der Sache, daß, wozu Schaudinn und andere durch ihr Beispiel bereits die Anregung gegeben haben, Beobachtungen über pathologische Veränderungen, selbst wenn sie abseits des eigentlichen Zieles der Arbeit liegen, mit in den Kreis der Betrachtung gezogen und weiteren Kreisen zugänglich gemacht werden. Von diesem Ge-

sichtspunkte aus hielt ich es auch für angezeigt, hier etwas ausführlicher über die von mir beobachteten Erscheinungen fettiger Degeneration bei tripyleen Radiolarien zu berichten.

Bonn, Anfang März 1909.

Literaturverzeichnis.

Askanazy, M. und Hübschmann, P. (1907): Über Glykogenschwellung der Leberzellkerne besonders bei Diabetes. in: Centralbl. f. allgem. Pathologie u. patholog. Anatomie Bd. XVIII Nr. 16 August 1907.

Birch-Hirschfeld, F. V. (1889): Lehrbuch der pathologischen Anatomie. Bd. 1. Allgemeine pathologische Anatomie. 4. Aufl. 1889.

Borgert, A. (1896): Zur Fortpflanzung der tripyleen Radiolarien (Phäodarien). in: Zool. Anz. Bd. 19 1896.

— (1900): Untersuchungen über die Fortpflanzung der tripyleen Radiolarien, speziell von Aulacantha scolymantha H. I. Teil. in: Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontog. der Tiere Bd. 14 Heft 2 1900.

— (1909): Derselben Arbeit II. Teil. in: Arch. f. Protistenk. Bd. 14 Heft 2 1909.

Calkins, Gary N. (1904): Studies on the life history of Protozoa. IV. Death of the A-Series. Conclusions. in: Journ. of experim. Zoology Vol. 1 No. 3 1904.

Carnoy, J. B. (1884): La biologie cellulaire. Lierre 1884.

Dangeard, P. A. (1895): Parasites du noyau et du protoplasma. in: Le Botaniste, Poitiers, 1894/95 Fasc. 6.

Doflein, F. (1907): Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. V. Amöbenstudien. 1. Teil. in: Arch. f. Protistenk., Suppl. I (Festband für R. Hertwig) 1907.

Elpatiewsky, W. (1907): Zur Fortpflanzung von Arcella vulgaris Ehrbg. in: Arch. f. Protistenk. Bd. 10 1907.

Goldschmidt, R. (1905): Die Chromidien der Protozoen. in: Arch. f. Protistenk. Bd. 5 1905.

Gruber, A. (1904): Über Amoeba viridis Leidy. in: Zool. Jahrb., Suppl. VII (Festschrift f. Weismann) 1904.

Hadži, J. (1907): Über intranucleare Kristallbildungen bei Tubularia. in: Zool. Anz. Bd. 31 1907.

Haecker, V. (1908): Tiefsee-Radiolarien. in: Wiss. Ergebn. d. deutsch. Tiefsee-Expedition 1898—1899 Bd. 14 1908.

Hertwig, R. (1900): Über physiologische Degeneration bei Protozoen. in: Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. in München 1900.

— (1903): Über das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. in: Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. in München 4. Nov. 1902 u. 19. Mai 1903.

Kolster, R. (1903): Zur Kenntnis der Embryotrophe beim Vorhandensein einer Decidua capsularis. in: Anat. Hefte, Merkel u. Bonnet Abt. I Bd. 22 1903.

List, Th. (1897): Über die Entwicklung von Proteinkristalloiden in den Kernen der Wanderzellen bei Echiniden. in: Anat. Anz. Bd. 14 Nr. 7 1897.
Luciani, L. (1906): Physiologie des Menschen. (Deutsche Ausgabe.) Bd. 2. Jena 1906.
Mingazzini, P. (1889): Ricerche sul canale digerente delle larve dei Lamellicorni fitofagi. in: Mitteil. a. d. zool. Station Neapel Bd. 9 Heft 1 1889.
Penard, E. (1905): Observations sur les amibes à pellicule. in: Arch. f. Protistenk. Bd. 6 1905.
Popoff, M. (1907): Depression der Protozoenzelle und der Geschlechtszellen der Metazoen in: Arch. f. Protistenk., Suppl. I (Festband für R. Hertwig) 1907.
Prowazek, S. (1904): Degenerative Hyperregeneration bei den Protozoen. in: Arch. f. Protistenk. Bd. 3 1904.
— (1907): Ein Beitrag zur Genese des Pigments. in: Zool. Anz. Bd. 31 1907.
Rengel, C. (1897): Über die Veränderungen des Darmepithels bei Tenebrio molitor während der Metamorphose. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 62 1897.
Sabussow, H. (1908): Über Kristalloide in den Kernen von Epithelzellen bei Planarien. in: Zool. Anz. Bd. 33 Nr. 16 1908.
Schaudinn, F. (1902): Studien über krankheitserregende Protozoen. I. Cyclospora caryolytica Schaud., der Erreger der perniciösen Enteritis des Maulwurfs. in: Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. 18 Heft 3 1902.
Waldeyer, W. (1906): Die Geschlechtszellen. in: O. Hertwig's Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungslehre der Wirbeltiere. Bd. 1 Teil 1 (Erste Hälfte) 1906.
Zacharias, E. (1907): Über die neuere Cyanophyceen-Literatur. in: Botan. Zeitung 65. Jahrg. 1. Sept. 1907.
Zimmermann, A. (1896): Die Morphologie und Physiologie des pflanzlichen Zellkernes. Jena 1896.
Zopf, W. (1884): Zur Kenntnis der Phycomyceten. in: Nova Acta d. Ksl. Leop.-Carol. Deutsch. Akad. d. Naturf. Bd. 47 1884.
Zuelzer, M. (1904): Beiträge zur Kenntnis von Difflugia urceolata Carter. in: Arch. f. Protistenk. Bd. 4 1904.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Sämtliche Figuren beziehen sich auf *Aulacantha scolymantha* H.

Fig. 1. Totalbild einer Centralkapsel mit einem Teil des Phäodiums. Im Endoplasma eine Blase mit Fettkügelchen. Fixierung mit Flemming'scher Flüssigkeit. Ungefärbtes Präparat. Vergr. 185 fach.

Fig. 2. Eine andere isolierte Centralkapsel. Neben dem eingedrückten Kern eine Blase, deren Fetteilchen durch die Reagentien aufgelöst sind. Eisessigsublimat. Salzsäurekarmin. Vergr. 185 fach.

Fig. 3. Schnitt durch eine Centralkapsel wie in Fig. 2 dargestellt. Flemming-sche Flüssigkeit. Hämatoxylin und Eosin. Vergr. 220 fach.

Fig. 4. Zwei Blasen mit Fettkügelchen im Endoplasma. Der Kern ist durch die Druckwirkung der Blasen stark deformiert. Am oberen Rande der Figur die Astropyle, unten rechts eine der beiden Nebenöffnungen. Flemming'sche Flüssigkeit. Hämatoxylin und Eosin. Vergr. 220fach.

Fig. 5. Schnitt durch eine Centralkapsel mit den umgebenden Phäodiummassen. Im Endoplasma zahlreiche Blasen. Der Kern in Degeneration. Im Extracapsularium zwischen den Phäodellen ebenfalls einzelne Blasen mit Fettkügelchen. Flemming'sche Flüssigkeit. Hämatoxylin und Eosin. Vergr. 220fach.

Fig. 6. Der Kern ist verschwunden. Zwischen den großen Blasen ist nur noch wenig in Zerfall begriffenes Endoplasma vorhanden. Flemming'sche Flüssigkeit. Hämatoxylin und Eosin. Vergr. 220fach.

Fig. 7. An Stelle des Kernes eine Blase mit Fettkügelchen. In dem die beiden Schichten der doppelten Blasenwandung voneinander trennenden Zwischenraum ein glanzkörperartiges Gebilde. Das Endoplasma ist stark degeneriert. Flemming'sche Flüssigkeit. Hämatoxylin und Eosin. Vergr. 220fach.

Fig. 8. Totalbild eines späteren Zustandes. Die die Blase ursprünglich umschließenden Endoplasmamassen sind vollständig verschwunden. Osmiumsäure. Salzsäurekarmin. Vergr. 185fach.

Fig. 9 u. 10. Zwei Schnitte aus einem etwas weniger weit fortgeschrittenen Stadium als in Fig. 8 dargestellt. Es sind noch geringe Reste des Endoplasmas vorhanden. Fig. 9 weist ähnlich wie Fig. 7 zwischen den Blasenwandungen ein glasartig durchsichtiges Körperchen auf. Fig. 10 zeigt, der inneren Blasenwandung angelagert, noch Reste der Kernsubstanzen. Die Fetteilchen sind gelöst. Eisessigsublimat. Salzsäurekarmin, Vergr. 220fach.

Fig. 11. Zwei glanzkörperartige Bildungen bei stärkerer Vergrößerung. Vergr. 500fach.

Fig. 12. Blase von Phäodiummassen umgeben; etwa gleicher Zustand wie in Fig. 8. Die Fettkügelchen sind gelöst, dagegen sieht man im Innern der Blase geringe Reste der Kernsubstanzen. Eisessigsublimat. Salzsäurekarmin. Vergr. 185fach.

Fig. 13. Blase mit Fettkügelchen aus dem Extracapsularium; in der Umgebung der Blase Phäodellen. Die Fettkügelchen sind hier in eine homogen erscheinende, sich mit Eosin färbende Substanz eingebettet. Flemming'sche Flüssigkeit. Hämatoxylin und Eosin. Vergr. 500fach.

Fig. 14. Oberflächlicher Schnitt durch eine Blase mit dicht gelagerten, sich gegenseitig abplattenden Fettkügelchen. Osmiumsäure. Ungefärbtes Präparat. Vergr. 500fach.

Fig. 15. Endoplasmapartie mit einer einzelnen Blase und zahlreichen kleinen durch das Protoplasma zerstreuten Fettkörnchen. Flemming'sche Flüssigkeit. Hämatoxylin und Eosin. Vergr. 500fach.

Fig. 16 u. 17. Fettkügelchen aus verschiedenen Blasen bei stärkerer Vergrößerung. Osmiumsäure. Ungefärbte Präparate. Vergr. 630fach.

On *Peridinium steini* JÖRGENSEN, with a note on the nomenclature of the skeleton of the Peridinidae.

By

Charles Atwood Kofoid,

Associate Professor, Department of Zoology, University of California, Berkeley.

(With Plate II.)

Contents.

A *Peridinium* referable to this species occurs sparingly in the winter plankton in the Gulf of Naples. Its occurrence there at other seasons is probable in the light of its wide distribution from northern to tropical waters. It is a species of much confused synonymy and one regarding whose structure conflicting statements appear in the literature.

On the morphology of *Peridinium steini* JÖRGENSEN.

The body of this rotund *Peridinium* has the form of a gourd or slightlv elongated globe, with a more or less extended neck. The globose midbody tapers rather abruptly into a short apical horn 0.2 to 0.5 transdiameters in length, while like all other species of the subgenus *Protoperidinium* it lacks entirely any hollow antapical horns (Pl. II figs. 3—5). The epitheca exceeds the hypotheca in altitude being 0.8 to 1.22 transdiameters in height. The hypotheca is almost a perfect hemisphere without antapical flattening or indentation. The epitheca is hemispherical in outline near the girdle, but becomes more cone-shaped as it approaches the apical horn (Pl. II figs. 3, 4). The transdiameter is about one twentieth greater than the dorso-ventral one but there is no perceptibly flattened region on the ventral face (Pl. II fig. 4).

The girdle or cingulum is equatorial in position, in so far as the globose midbody is concerned, and is also nearly midway between the tip of the apical horn and those of the antapical spines, a structural feature found generally throughout the genus. Its plane is perpendicular to the main axis. This, together with the spherical form of the midbody and equality of the antapical spines gives a perfection of symmetry to this organism rarely attained in the *Peridinidae*. It forms a low ascending right spiral and has its distal end displaced anteriorly its own width (Pl. II fig. 3 shows this more plainly than the more oblique view in figure 6).

The thecal wall consists (Pl. II figs. 1 and 2), of the normal number of plates; four apicals (1′—4′), three dorsal intercalaries (1^0—3^0), seven precingulars (1″—7″), five postcingulars (1‴—5‴) and two antapicals (1⁗—2⁗), giving a formula for the whole theca of 4′, 3^0, 7″, 5‴, 2⁗. To these are to be added the cingular plate (*c. pl.*) and those of the ventral area.

The nomenclature here used is applied for the first time to *Peridinium*. It was previously (1907 b) used by me for the plates

of *Ceratium* and is employed here because of its wide adaptability to the *Peridinidae* and its morphological basis.

The four apical plates 1'—4' are those whose apical ends border the apical pore. In the case of the mid-dorsal (3') and the two laterals (2' and 4') this relation to the pore is at once evident. The rhomb plate (1') is, however, considerably removed from the apex, especially in *P. steini mediterraneum* where the apical horn is much elongated. It still retains its marginal relation to the apical orifice, for the narrow ventral slit (*v. s.* Pl. II fig. 3) of the apical pore extends posteriorly on the ventral face of the horn to the apex of the rhomb plate. This plate extends nearly to the girdle, if indeed in some cases it does not reach it. Its posterior border terminates typically at the truncated anterior end of the anterior plate (*a. pl.* Pl. II fig. 6) of the ventral area which extends above the girdle indenting the epitheca. More care is needed in the delineation of this region of many of the species of *Peridinium.* Except in certain figures of STEIN (1883) the lower end of the rhomb, the adjacent part of the ventral area and the relations of the two to the girdle are imperfectly, obscurely or incorrectly shown in published figures of the species of this genus.

The dorsal intercalaries (1°—3°) are three in number in my material. PAULSEN (1907) also finds three, but STEIN (1883) and SCHÜTT (1895) figure only two. As I show later, STEIN (1883) includes two species in his *P. michaelis* (= *P. steini* JÖRG.). The elimination of one of those species (*P. longispinum,* see KOFOID 1907) removes one of his figures (Taf. X Fig. 9) showing two intercalary plates. The other case (his Fig. 13) is peculiar in that it shows a mid-dorsal view of the hypotheca, but an obliquely lateral view from the right, of the epitheca. In this figure the two dorsal intercalaries 2° and 3° are shown resting posteriorly upon the two anterior faces of the middorsal precingular (4"). A similar relation exists between two of the dorsal intercalaries, 2° and 3°, in my figure (Pl. II fig. 5) and plate 4", while a third dorsal intercalary, 1°, lies further around upon the left shoulder. The possibility of the presence of a third plate in STEIN's specimen is not precluded. In my own material there is a tendency for these dorsal intercalaries to be shifted somewhat asymmetrically to the left (see figs. 1 and 5) with respect to the middorsal line and plate 4". This same tendency is often seen in other species of *Peridinium* and it is on the left shoulder that the single intercalary plate is found in *Heterodinium* (see KOFOID 1906a). In such rotund species as *P. steini* the third

plate is very easily overlooked and I am therefore inclined to think that this may have happened in the case of these figures of STEIN and SCHÜTT rather than that the species is variable in this particular. There is in addition to the four main series of plates, which, with the exceptions, above noted are typical for the genus *Peridinium*, a girdle or cinglular plate (*g. pl.* Pl. II figs. 3, 6) which I was unable to resolve into separate segments. This girdle is crossed near the proximal end by a band of intercalary striae, and by a similar structure near its distal end (*i. s.* Pl. II fig. 6), indicating the probability of subdivision into at least three parts, but additional bands were not discernible on the dorsal side. There is in literature no record of the resolution of the girdle plate of *Peridinium* into discrete segments.

There is also a „ventral area“ (*v. a.* Pl. II figs. 2, 6), the "Mundspalte" of STEIN (1883) which consists of four pieces grouped with relation to the girdle and flagellar pore as follows. Between the ends of the girdle there is an anterior segment (*a. pl.*) which extends beyond its level indenting the epitheca and terminating at the lower end of the rhomb-shaped midventral apical plate 1'. This plate is squarish anteriorly and in this species forms a relatively narrow and elongated structure with a crowded line of pores along its left margin. A relatively prominent pore (*v. po.*) lies just anterior to it, a structure found in some other genera and species of Dinoflagellates as in *Heterodinium* (KOFOID 1906 a).

Posterior to this lies a broad tract relatively free from pores which is divided into two plates by a median longitudinal suture separating the median (*m. pl.* Pl. II fig. 6) plate on the right side (left of figure) from the sinistral plate (*s. pl.*) which forms the left portion of this region. Both plates terminate in this species at the flagellar pore (*fl. po.*). Behind and around this pore lies the posterior (*p. pl.*) member of the quartet.

STEIN (1883) has designated this whole region occupied by these four plates as the "Mundspalte" and three of the four are plainly indicated in his figures of this region *Peridinium tabulatum* (his Taf. XI Figs. 11, 12), and are suggested in part elsewhere in some of his excellent figures. The fourth plate, the sinistral, is less clearly seen in his figures. The fact that this ventral area borders anteriorly upon one of the apical series of plates and extends posteriorly to the postmargin and is included laterally between the two ends of the girdle, indicates conclusively that it is the precise homologue of the so-called ventral plate of *Ceratium*. This "ventral plate"

includes, however, far more than the longitudinal furrow, or "Mundspalte" of *Ceratium*. Moreover this so-called ventral "plate" of *Ceratium* is not a simple structure but is a complex of at least four plates. In view of this fact and to facilitate a wider homologizing of the skeletal parts of the Peridinidae it seems desirable to abandon the misleading term "ventral plate" in the case of *Ceratium* and "Mundspalte" or longitudinal furrow in the case of *Peridinium* and to designate the two homologous regions by the unobjectionable and more widely applicable term "ventral area". The subdivisions of this region are not separated by heavy sutures or intercalary striae such as mark the limits of the main plates of the thecal wall and form the outer boundaries of this ventral region. Their boundaries are marked only by faint ridges and a slight change in the texture of the wall. They are in part at least (see STEIN Taf. XI Fig. 12) separable, and lying in a region of lighter texture are not so plainly discernible as other suture lines. They are to be regarded as plates of small size and subordinated relations, in a highly specialized but functionally and morphologically important part of the skeleton. The posterior location of the flagellar pore precludes the existence of a longitudinal furrow in the strict sense of the term in this and similiar species.

The thecal wall of *Peridinium steini* is of nearly uniform thickness throughout, except in the apical horn where it is thickened distally to twice its normal thickness, reducing the lumen to a very minute canal. Toward the midbody the wall abruptly (Pl. V fig. 10) thins to the normal thickness, 1.5—2 μ. The wall is highly elastic, yielding to pressure, but recovering its form without fracture, on release. It is of a yellowish gray color, obscured by the rosy hue of the plasma and fluid of the vacuoles. It is exceedingly hyaline and the pores, striae and suture lines are visible only under high magnification and best conditions of illumination.

The wall is porulate with exceedingly minute pores of unequal size, 0.3 to 1 μ in diameter, unevenly and irregulary distributed (Pl. II fig. 6). They show a tendency to be most numerous and crowded in the parts of the plates near suture lines and especially on sides toward the girdle or near the ventral area. They are more sparingly distributed in the middle of the plates and on the apical horn. In crowded areas they appear like fine reticulations in surface view but in optical section they can be seen to traverse the wall.

A crowded horizontal line of pores traverses the middle of the girdle plate except near its ends beyond the cross bands of inter-

calary striae. The pores also have a peculiarly irregular distribution in the ventral area (Pl. II fig. 6).

The demonstration of actual openings of the pores at their inner and outer ends is, as SCHÜTT (1895) has suggested, well-nigh impossible. This is especially true with such fine pores in so hyaline a wall as is found in this species. STEIN (1883) figures structures which may be taken for pores; PAULSEN (1907, 1908) mentions none but states that the surface is "distinctly reticulated with small meshes". In living material or that fixed while perfectly fresh the sheet of minute peripheral platysomes immediately against the wall gives the appearance of fine reticulations with an even distribution rather different from that of the pores, and the inner face of the wall is uneven but the outer surface appears to be perfectly smooth.

The skeletons are (in all individuals?) marked by broad bands of intercalary striae. These are of nearly uniform width throughout and follow all the sutures except those along the girdle plate, in the ventral area and those between the apical plates. The last named are mere lines anteriorly but widen posteriorly and show some traces of intercalary striae. These striae are distributed at close but somewhat uneven intervals in the bands leaving peculiar triangular areas free from markings at the junctions of the bands. They are not surface thickenings either upon the outer or inner face of the wall but are, according to my observations, oblique structures in the substance of the wall itself in and beyond the region of overlapping on the margin of the plates, passing from the outer to the inner surface. This can be demonstrated with careful focusing on bands in a horizontal position, and can also be seen in optical section of the wall (Pl. II figs. 7, 8). Those of the precingular-apical, precingular-intercalary and intercalary-apical sutures pass from the inner surface obliquely through the wall in an anterior direction. Those of the postcingular-antapical suture pass posteriorly outward. In general all striae of the inter-serial sutures thus pass outwardly through the wall in a direction away from the equator or girdle (Pl. II fig. 7). In the meridional sutures, or those between plates of the same series, on the other hand, the striae seem to have no uniform direction of emergence and an oblique direction of the cleft in the wall is often difficult to detect especially in the interapical and interpostcingular sutures.

In the girdle the striae in the two bands (Pl. II fig. 6) which cross it on the ventral face are directed from a proximal position on the inner face to a more distal one on the outer face. They thus

run in the direction of the waves of contraction in the overlying transverse flagellum.

The precise structure of these intercalary striae is difficult to determine and their significance can at best be only conjectured. They always appear to consist, in this species at least, of parallel lines the distance between which is about equal to the diameter of the larger pores. This fact, together with the absence of pores in the bands where these striae appear leads me to suggest that the striae are modified pores or canals lying in the wall, or on the oblique faces of the overlapping margins of the plates. It is quite probable that the structures are continued beyond the edges of the overlapping plates as the width of the band of striae exceeds the apparent width of the overlapping margins.

Bütschli (1885) has suggested that they represent zones of growth occurring after the plates are formed. To this interpretation Schütt (1895) dissents arguing that growth, if it occurs, is probably not limited to the marginal zone of the plates and that marginal growth alone would be impossible in spheroidal forms without distortion. He regards the striae rather as thickenings of the membrane which mechanically strengthen the wall near the suture and protect it against breakage, comparing the surface ribbing of the dinoflagellate plates with the ribs of the leaves of plants in their function.

Against Schütt's explanation may be urged the fact that these striae are best developed, that is, form widest bands, in thick-walled species as in *Peridinium multistriatum* Kofoid and *Peridinium breve* Paulsen, the very species in which the strengthening of the wall is least necessary. As I have above shown they are not superficial ribs but are rather oblique structures penetrating the wall along the line of the overlapping margins of the plates. The correlation of the increased width of the intercalary bands with the thickening of the wall and reduction in the porulate areas of the plates leads me to infer that they are neither growth zones nor peculiar types of membrane thickenings (Schütt) but rather modifications of the margins of the plates in their plane of contact, modifications which may extend beyond the limit of that plane. They may be structural adaptations facilitating the communication of the inner and outer plasma, the transfer of fluids through the substance of the wall, and also the union of the opposed surfaces.

The thecal wall is not a homogeneous lamella but consists of three parts (Pl. II fig. 8), a darker outer zone or "cuticle" (*o. z.*), a lighter colored very hyaline middle zone (*m. z.*) which makes the

principal part of the thickness, and a very dark, granular, inner zone (*i. z.*) whose surface is not so uniformly smooth as the outer one. The irregularities of this inner face and the platysomes distributed immediately against it give rise to an appearance easily interpreted as surface reticulations.

The extensions from the surface of the thecal wall are limited to the lists of the girdle, and the posterior spines with their fins or wings. There are no other surface reticulations or ribs on the plates. The lists (*l.* Pl. II figs. 3, 6) of the girdle are thin, rigid, hyaline sheets of wall substance perpendicular to the wall at the girdle. They are about 5 μ in height, decurrent abruptly at their ends upon low ridges that mark suture lines or upon unmarked sutures. They both stand along sutures, the anterior on that between the precingulars and the girdle plate, and the posterior on that between the latter and the postcingulars. They are strengthened by hyaline ribs at regular intervals. The form of these lists and the transverse furrow between them is correctly given by STEIN (1883) and SCHÜTT (1895). PAULSEN (1907, 1908) figures double-contoured heavy ridges along a furrow which indents the thecal wall. I find no such girdle in this species.

The antapical spines (*ant. sp.* Pl. II fig. 3) are slender, solid, hyaline rods springing from the ventral part of the antapical plates slightly ventral to the median frontal plane. Their bases are scarcely 0.3 of a transdiameter apart, and they diverge posteriorly at an angle of nearly 30°. They are approximately equal in their length which varies considerably. In *P. steini mediterraneum* they are from 0.45 to 0.6 of a transdiameter in length. In *P. steini paulseni* they are shorter, 0.35 to 0.43. They are of nearly equal diameter throughout, and abruptly pointed at their ends. Distally both are slightly curved, their tips being inflexed ventrally and obliquely toward the median line (Pl. II fig. 4). This flexure is more marked in the right than in the left spine.

The significance of this distal asymmetry is doubtless the same as that in *Triposolenia* (KOFOID 1906 b). In a sinking *Peridinium* it tends to shift the organism from a vertical position, in which its main axis is in the direction of the pull of gravity and its least surface is exposed to the displacement of the surrounding water, to a horizontal position in which the greatest exposure of surface is found. It is perhaps significant that the organism, by virtue of the direction of this distal asymmetry, is thrown upon its dorsal face in which position the spreading backwardly directed fins of the antapical spines attain their maximum hold upon the water, that is, their

greatest form-resistance. The increase in the surface opposed to the direction of the action of gravity by this shift in position is over thirty per cent. In many species of *Peridinium* as for example in *P. depressum* and *P. oceanicum* the girdle is oblique and the midbody asymmetrical so that the organism is thrown in a similar way upon its dorsal face upon sinking. In *P. steini* there is no trace of asymmetry in the midbody but only a slight deflection in the most effective spot in the organism, the distal end of the antapical spines.

The antapical spines are each of them provided (Pl. II fig. 6) with three hyaline fins or wings which extend radially from the shaft of the spine upon whose tip they are decurrent. They are homogeneous hyaline structures with minute and irregular serrations in places along their edges. The three fins are grouped in a similar manner on the two spines projecting respectively in the ventral, dorso-lateral and dorso-median directions. The ventral fin of the left horn (*l. v. f.*) is larger than that of the right (*r. v. f.*) and is decurrent basally upon the suture between postcingular 1‴ and the ventral area. That of the right horn (*r. v. f.*) is difficult to demonstrate. It extends in a corresponding direction, its base terminating on the midbody at a short spine (*sp.* Pl. II fig. 6) midway between the base of the right spine and the flagellar pore. It becomes decurrent on the shaft distally at the flexure but flares out again in a short distal lobe (*d. l.* Pl. II fig. 6). The bases of the two dorso-median fins (*d. m. f.*) pass on the midbody to a point near the ventral end of the median suture between the two antapical plates, and those of the two dorso-lateral fins (*d. l. f.*), with obliquity at an angle of 30°—40° from the frontal plane, in the dorso-lateral direction. The right ventral fin has not been previously noted for this or other species of the genus.

With the shifting of the flagellar pore nearly to the antapex of the midbody, and the elongation of the apical horn in this species, we find a considerable compensatory growth in the posterior direction of the antapical spines and the development of skeletal tissue stretched in the direction of locomotion. We find that the flagellar pore is located just within the posterior third of the total length. It occupies a similar position in *P. divergens* with long hollow antapical horns, and in *Podolampas bipes*, which resembles *P. steini* in its possession of elongated apical horns and antapical spines with fins.

It is usual to regard the lists, spines and fins of the dinoflagellates primarily as organs of flotation and they doubtless do serve this function, by way of increasing the specific surface of the

organism, but at the same time it is patent that these antapical spines with their fins are profoundly adaptive by virtue of their form and location, to the function of preserving the equilibrium of the organism in locomotion and that of orientation in sinking. They serve as rudders and their unusual development in this pelagic species is correlated with its globular form and the posterior position of the flagellar pore, whence the propelling flagellum emerges.

In addition to the two antapical spines there is a third, the right flagellar pore spine (*fl. sp.* Pl. II fig. 6) which springs from the ridge bounding the right side of the flagellar pore and curves abruptly to the left below the pore. This spine bears a curved scoop-shaped fin (*fl. f.*) that extends around behind the pore and forward to the anterior end of the flagellar pore where it terminates on a short stout spine rising from the rim of the pore. Its fin thus forms a sort of an apron running posteriorly from the rim of the flagellar pore, which doubtless functions as a support for the longitudinal flagellum. This spine and its fin are suggested by the figures of STEIN (1883) but are not shown elsewhere in any figures of this species except the tip shown in SCHÜTT's figure 46_1, Taf. 14.

The flagellar pore is a reniform opening of considerable size through the thecal wall. It is surrounded by a heavy ridge which sinks into the plasma for a short distance. From this pore the transverse flagellum runs forward (see SCHÜTT 1895 Taf. 14, Fig. 46_3) to the girdle, traversing the ventral area. The position of the flagellar pore in *Ceratium* on the other hand is immediately at the proximal end of the girdle, and in many species of *Peridinium* it is not far from this position. (Its precise location is very often imperfectly indicated, or omitted in figures of species of this genus.) The morphological relations of the pore in *P. steini* are such as to indicate that in this species it has migrated posteriorly to its position remote from the girdle, moving along the suture between the median (*m. pl.*) and sinistral plates (*s. pl.*) of the ventral area (Pl. II figs. 2, 3).

The apical pore is funnel-shaped, leading into the narrow canal within the thickened walls of the apical horn. The end of the horn is not flaring as in *P. pedunculatum* nor notched as shown in PAULSEN's (1907, 1908) figures, but the long narrow ventral slit (*v. s.* Pl. II fig. 3) as figured first by STEIN (1883) is characteristic of the apex.

The cell contents of active living individuals fill the theca completely and are closely adherent to the thecal wall. In a perfectly fresh specimen a thin sheet of delicate hyaline extramem-

branous plasma (?) or possibly slime (?) could be detected about the contracted part of the epitheca and upon the ventral face of the hypotheca (*ex. pl.* Pl. II fig. 4). Within the wall the plasma is quite dense and granular especially in peripheral regions. In the plasma immediately against the thecal wall is imbedded a single peripheral layer of platysomes or leucoplasts (*lcp.* Pl. V fig. 9), minute ellipsoidal bodies of grayish hyaline color. The nucleus (*n.*) is located in the hypotheca in a peripheral dorsal position. It is ellipsoidal in form and has the usual beaded chromatin network.

Scattered in the plasma in the upper end of the epitheca is a number of slender rod-like rhabdosomes (*rh.* Pl. II fig. 9) with their upper ends inclined toward the apical canal. SCHÜTT (1895) figures these as radially arranged in the peripheral plasma at all levels.

The pusule apparatus of this species, as SCHÜTT (1892, 1895) has shown is well developed. I have been able to verify in almost every detail his careful account of its characteristic structure. There is in the center of the midbody a huge bilobed sack pusule (*s. pus.* Pl. II figs. 9—10) whose two anteriorly extended lobes are bluntly pointed at the end and are joined together posteriorly by a broad bridge. This pusule opens by a short funnel-shaped canal (*c.'*) leading to the flagellar pore. In a median position upon the ventral side of this large sack pusule is a small spherical pusule (*c. pus.*) with a slender duct (*c.''*) also leading to the flagellar pore. SCHÜTT has called this a "collecting" pusule. Both of these pusules and their canals have a clearly defined plasmal wall. Adjacent to the tip of the shorter left lobe of the sack pusule is an accessory pusule (*ac. v.* Pl. II fig. 9) without such sharply defined walls. SCHÜTT (1895) regards all these structures and also the daughter "pusules" (*d. v.* Pl. II fig. 10) as normal morphological constituents of the cell. My own observations on this species lead me to give a somewhat different interpretation to the so-called accessory and daughter pusules, to consider these in fact, as mere passing phases of a physiological process and probably a degeneration or depression phenomenon, but these restrictions do not apply to the sack and "collecting" pusules. ENTZ (1907) has expressed (in Hungarian alas!) some doubts as to the constancy of the pusules as cell organs as proposed by SCHÜTT. Any final conclusion on this contested point can only be determined by the examination of fresh material in normal condition. The extreme sensitiveness of the dinoflagellates to even the slight changes to which they are necessarily subjected in collection and microscopical examination is such that degenerative changes immediately ensue,

and normal structures, such perhaps as sack and collecting pusules begin to show abnormal modifications. Degenerative processes may also bring forth new abnormal structures such as accessory and daughter vacuoles, or increase the member of these structures if normal.

In the presumably normal specimen of this species when first observed by me a short time after its removal from the sea there were at 10 A. M. perfectly normal sack (*s. pus.*) and collecting pusules (*c. pus.* Pl. II fig. 9). During the course of the first half hour an accessory vacuole (*ac. v.*) appeared in the plasma adjacent to the shorter left lobe. There was at first no trace of any daughter vacuoles. In the course of two hours the sack pusule shortened and grew more rotund, the bridge increasing at the expense of the lobes, (Pl. II fig. 10) the accessory vacuole grew fainter and the collecting pusule expanded to four times its earlier volume, while both became gradually covered on all sides by a layer of small daughter vacuoles of varying size. Vacuoles similar in size and refractive index to the larger daughter vacuoles began to appear in the surrounding plasma and to gather against the outer plasma zone (Hullplasma), which at the same time began to shrink away from the thecal wall, the space thus left vacant being filled by a fluid with a rosy nuance similar to that of the fluid filling the pusules and vacuoles. The assumption of the spheroidal form by the sack pusule continued and at 2.30 P. M. there remained (Pl. II fig. 11) only a centrally located spheroidalarea with lobed outline. The collecting pusule had entirely vanished and no trace of the canals remained. All of the daughter vacuoles and the accessory vacuole had also disappeared. The outer fluid filled zone was somewhat wider. The reduction in volume of the fluid filled space within the cell body by this process approached fifty per cent.

The process here observed taken in conjunction with the disappearance of the flagella, is, it seems, plainly an adjustment to a quiescent condition. While it is not possible to trace the movement of these daughter vacuoles, on account of their minuteness and the slowness of the process, the conditions of their appearance, distribution and disappearance are such as to suggest that they form on the walls of the main pusule apparatus and pass peripherally discharging their contents, perhaps by osmosis, at the surface. They are thus in reality daughter pusules or vacuoles deriving their fluid from the main reservoirs, but are of ephemeral existence and no morphological significance. I have found no evidence to confirm SCHÜTT's (1895) conjecture that they are pulsating contractile vacuoles.

It is impossible to state how large a part, if any, they play in the normal life of the organism. It may be that the process described above is only an excessive or exaggerated form of their normal activity, connected with the assumption of a quiescent condition in which the plasma is condensed by the elimination of some of its fluid contents and the reduction of the pusule apparatus. I am more inclined to adopt this view of a quiescent condition because of the fact that the spheroidal and globular species of the subgenus *Protoperidinium* characterized by the absence of yellow chromatophores and the presence of colorless leucoplasts and of a rosy nuance or even of entirely colorless plasma, are among the most resistant forms of the hypersensitive group of dinoflagellates. In plankton cultures kept in the laboratory under the most favorable conditions as to temperature, light, evaporation and aeration they persist in a quiescent condition for some days, even after other species have decayed. The plasma shrinks away from the walls and retracts from the apical canal as though cyst formation was about to ensue. No cyst wall or escape of the cell contents has however been seen by me in these long quiescent forms. Many, perhaps all, ultimately decay in these cultures.

The daughter "pusules" are thus evanescent structures hardly comparable morphologically with the sack and collecting pusules. The accessory "pusule" also has no definiteness and constancy. Its walls are vague, and its form, size, and location are inconstant. There seems to be no criterion beyond its occasional large size by which it can be distinguished from the plasma vacuoles (Saftvacuolen) with undifferentiated walls which Schütt (1892, 1895) maintains are physiologically and morphologically different from the pusule apparatus. In contradistinction to Schütt I would limit the use of the word pusule to those parts having a definite morphological differentiation, to wit the sack and collecting pusules and their canals. The so-called daughter and accessory "pusules" have a physiological rather than a morphological significance and therefore might better be classed as vacuoles.

While Schütt (1892, 1895) gives no explicit statement as to his conception of the functioning of the pusule apparatus one infers from his terminology that he regards the canals as conduits for the discharge of the fluid contents of the reservoir, and the daughter pusules as discharging into the pusules to which they are attached. The movement of fluids through the apparatus according to this interpretation is thus outward through the flagellar pore.

The observations above described suggest a movement in the opposite direction, to wit, in through the flagellar pore into the sack and collecting pusule, and thence into the daughter and accessory vacuoles, perhaps also into typical plasma vacuoles (Saftvacuolen), and ultimately out through the apical and other pores of the thecal wall.

Other considerations also lend support to this view. (1) The canals lead from the flagellar pore, the cytostome of holozoic dinoflagellates. (2) The action of the distally moving waves of contraction in the ribbon-like transverse flagellum tends to carry a current of water along the girdle toward its proximal end and down the ventral area to the flagellar pore. The fluid and particles accumulated in this current would thus tend to be carried into the flagellar pore and into the canals of the pusule apparatus. I have seen no solid contents, however, in the pusule apparatus. (3) The maximum development of the pusule apparatus occurs in the dinoflagellates in which the chromatophores are replaced by leucoplasts such for example as *Peridinium steini*, *P. globulus* and some other members of the subgenus *Protoperidinium* and in *Diplopsalis lenticula*. It is also extensively developed in *Podolampas* a genus in which the chromatophores are densely massed together and are sometimes extruded in extramembranous plasma. The increased development of the pusule apparatus in those dinoflagellates which have leucoplasts over that in those possessing chromatophores, the organs of synthesis, leads to the inference that this system of cell organs is in some way concerned with the kind of nutrition existing in the absence of chromatophores, though such type of nutrition may not be limited to species devoid of these organs of synthesis. A saprophytic mode of nutrition in zones of decaying plankton is strongly suggested by the phenomenon here discussed.

Diagnosis and synonomy.

The following brief diagnosis will serve to indicate the characters of the species with which this paper deals. The partial synonymy and discussion which follows have to do, with the exception of JÖRGENSEN's paper, only with literature containing figures. It is quite impossible to determine the synonymy of many species of *Peridinium* when figures have not been published indicating the organism to which the name is applied.

Peridinium steini JÖRGENSEN emend.

Peridinium Michaelis, EHRENBERG, 1834, pp. 504, 537, 575, Taf. II Fig. IV. Not *P. steini*, fide JÖRG. 1899.

P. Michaelis, STEIN, 1883. Taf. IX Figs. 10, 13 = *P. steini*; Figs. 9, 11 = *P. longispinum* KOFOID; Fig. 12 is indeterminable; Fig. 14 is in all particulars except the lack of displacement of the distal end of the girdle similar to *P. steini*. It possibly represents the extreme of variation in the species in this direction but without the displacement of the girdle usually found it this species, or is perhaps, an incorrectly drawn figure.

Protoperidinium pellucidum, var. B, POUCHET, 1883, p. 431, Pls. 18, 19 Figs. 10, 11. It is quite probable that fig. 10 is a reversed figure i. e. with the ventral girdle drawn on the dorsal face (interpreting the heavier lines as uppermost), and that fig. 11 is foreshortened.

Peridinium Michaelis, SCHÜTT, 1895, p. 157—158, Taf. 74 Fig. 46_{1-7}.

P. steinii, JÖRGENSEN, 1899, p. 38, in part, since he includes all STEIN's figures as one species which he calls *P. steinii.*

P. steinii, PAULSEN, 1905, p. 4, Fig. 3. Not *P. steinii*. Later (1907, 1908) he transfers the two forms here described, f. *brevis* and f. *pyriformis*, to specific standing. Both differ from *P. steinii* in having indented girdles, less rotundity of body, and wide intercalary bands.

P. steinii, PAULSEN, 1907 p. 13, Fig. 14 a, b; 1908, p. 47—48, fig. 58 a, b. His figures a and b represent *P. steinii* in all particulars but the indented girdle. His figures 14 c, d and 58 c, d, are not in my opinion *P. steinii*, and are indeterminable in the absence of any knowledge regarding their plates.

Diagnosis.

Midbody globular, slightly elongated, without ventral or antapical flattening, passing rather abruptly into a more or less developed apical horn. Girdle equatorial, its distal end displaced anteriorly nearly its own width. Two solid slender antapical spines each with three fins. Left ventral fin decurrent on left suture of ventral area. Margins of fins often slightly serrate. Flagellar pore posteriorly located with curved spine on right side and scoop-shaped fin. Three dorsal intercalary plates. Intercalary bands present. Apical pore with ventral slit. Bilobed centrally located sack pusule,

small ventral collecting pusule. Radially arranged or apically grouped rhabdosomes. Leucoplasts present. No chromatophores. Fluid of vacuoles and plasma with faint rosy nuance or colorless. Transdiameter 40—50 μ; total length 54—108 μ.

Known to occur at Kiel, in Biscayan waters, Mediterranean, Pacific Ocean off San Diego.

Two subspecies which probably intergrade may be recognized. These differ in minor characters possibly as the direct result of environmental conditions.

P. steini mediterraneum subsp. nov. Body more rotund. Apical horn and antapical spines elongated, fins well developed. Total length two or more transdiameters. Antapical spines 0.4—0.6 transdiameters in length. In warm seas. Mediterranean; San Diego.

P. steini paulseni subsp. nov. Body less rotund, epitheca more elongated. Apical horn and antapical spines less elongated. Total length less than two transdiameters. Antapical spines less than 0.4 transdiameters in length. Kiel; Biscayan waters; Coast of California.

The minor structural details, such as the right ventral fin, the two small ventral spines, and the subdivisions of the ventral area, are possibly to be found also in the northern as well as in the southern subspecies and are not to be regarded as characteristic of the latter, but as due rather to the greater detail of examination.

The nomenclature of the skeleton of the Peridinidae.

The skeleton of the Dinoflagellata bears a close relation to the fundamental characters of the group, to wit, to the presence of a transverse and of a longitudinal flagellum emerging near together from a pore or depression in the plasma on the ventral face of the organism. The transverse flagellum is wound about the body from the left around to the right side and lies in a depression of the plasma (Gymnodinidae) or skeleton (many Peridinidae) or on the skeleton between low and stout or higher membranous lists (some Peridinidae, Dinophysidae) or quite unprotected on the surface (Podolampinae). The path which it follows is the cingulum or girdle which thus has a proximal region near the pore and a distal one toward the free end of the flagellum. The girdle sometimes lies in one plane (*Peridinium minutum*), but its distal end is usually displaced anteriorly

(*Peridinium steini*) or more often posteriorly (*P. tabulatum*) so that the girdle forms an ascending (anterior displacement) or descending (posterior displacement) right spiral of a single turn (or more in *Spirodinium* and *Cochlodinium*).

The girdle thus divides the theca or exoskeleton into two parts, an anterior and a posterior one which may be designated as epitheca and hypotheca respectively. In the Peridinidae these are separated by a discrete skeletal segment the cingular (*c. pl.*, Pl. II fig. 6) plate, except in the case of the Podolampinae where it is seemingly fused. Analogous terms, episome and hyposome are applicable to parts of the cell body above and below the girdle of the naked forms (Gymnodinidae). The transverse flagellum is thus associated with this fundamental transverse subdivision of the skeleton into epitheca and hypotheca.

The longitudinal flagellum in a corresponding manner determines the direction of the main morphological axis and also lies approximately in the axis of locomotion and rotation. It also is accompanied by structural modifications of the cell body or its enveloping skeleton which is variously modified on the ventral face into a longitudinal furrow, or a more expanded ventral area in one part of which lies the flagellar pore where the flagella enter the plasma of the cell body. The longitudinal flagellum and the resulting direction of locomotion fix an antero-posterior or main axis which is crossed at a right or more or less oblique angle by the plane of the girdle in which the transverse flagellum lies. The region which leads in locomotion is the apical and that at the other end of the body the antapical one. The face upon which the two ends of the girdle are found (together with the flagellar pore) is the ventral one. These structures thus determine the morphological axes of the organism. The transdiameter of the midbody measured in middorsal or midventral view at the edge of the girdle becomes a convenient unit of measurement in expressing the proportions of the organism.

In the family *Peridinidae* (*Peridinieae* Schütt) the skeletal parts may be so named as to recognize the fundamental morphology of the group and to afford a basis for a comparative morphology of the family.

The division of the skeleton into epitheca and hypotheca is everywhere recognizable, and with the exception of the *Podolampinae* these parts are separated by an easily recognizable skeletal element, the girdle band or cingulum which may or may not be subdivided into discrete plates at points corresponding to the main meridional

sutures of the epitheca and hypotheca. The epitheca and hypotheca, except as yet in the imperfectly known genera *Glenodinium* and *Ptychodiscus*, are each composed of definite series of separable elements called plates. The plates, in all the genera in which they are known, fall naturally into two transverse encircling bands or series in epitheca and also in the hypotheca, upon either side of the girdle. In the epitheca the anterior or apical series (1′—4′, Pl. II fig. 1, employing *Peridinium steini* as a type) is grouped about an open apical pore (*Peridinium*, *Ceratium*) or in an apical cluster (*Oxytoxum*, *Amphidoma*), while between these and the girdle lies a second series of plates, usually more numerous and of larger size, the precingular plates (1″—7″, Pl. II fig. 1). The series of the epitheca may be interrupted by an extension of the longitudinal furrow or ventral area (*Goniodoma*) or this may be more or less (*Ceratium*, *Peridinium*) indented into the epitheca or even carried to the apical end along the midventral line (*Gonyaulax*, *Steiniella*). Between these two series upon the dorsal side of the theca, often asymmetrically displaced to the left and transversely arranged, is found in a few genera a small group of plates, the intercalary series, which is always incomplete (1^{a}—3^{a}, Pl. II fig. 1), two or three in *Peridinium* and one in *Heterodinium*, and one or two in the Podolampinae.

Immediately behind the girdle lies the postcingular series (1‴—5‴, Pl. II fig. 2) usually fewer in number than the precingular series and in certain plates often of larger size. Midventrally this series is interrupted by the ventral area (*Ceratium*) or longitudinal furrow (*Oxytoxum*) which is usually subdivided into a number of minor parts (Pl. II figs. 2, 6). At the antapex is found the antapical series (1⁗—2⁗, Pl. II fig. 2) of one or more plates forming a terminal group, behind the postcingulars but often indented (*Peridinium*, *Blepharocysta*) by the ventral area.

A natural starting point for the numbering of the plates in the series is afforded by the midventral line marked by the ventral area in which, or on whose margin lies the flagellar pore. In some genera (*Gonyaulax*, *Steiniella*) the anterior extension of the longitudinal furrow into the epitheca provides a natural point of departure in the numbering of the plates in the series. In other cases (*Goniodoma*) this indentation is absent or obscured (some species of *Peridinium*) and the starting point must be selected in the midventral line with due regard to meridional sutures which cross from epitheca to hypotheca and to the relation of precingular and apical plates to the proximal end of the girdle, to the ventral slit of the apical pore and to such

other indications of homologies of the ventral parts of the epitheca as may be found.

Given the series of plates above indicated and the midventral region as a morphological base line the nomenclature of the plates in each series in the direction of the prolongation of the transverse flagellum completes a system with a morphological basis throughout.

The method of designation which I have adopted (1907 b) in the case of *Ceratium* is readily applied to all genera of the family, superscript of acute accent marks, or figures if preferred ($1''$ or 1^2) being employed to designate the series or rank in which the plate belongs while the number itself gives the location of the plate in the series, thus $7''$ is the seventh precingular, and $2''''$ is the second antapical, while 3^0 is the third intercalary, a zero being used as superscript for this series which is usually missing and always incomplete. The girdle plates and those of the ventral area and longitudinal furrow are too little known and perhaps to variable to permit as yet any general system of nomenclature.

The system above proposed has a morphological basis and offers possibilities for the discussion of a comparative morphology of skeletal parts of the various genera of the family. It is moreover simple and easily applied and provides a proper and particular designation for each separate one of the main plates of the skeleton. In practical use it is a simple matter, as a general rule, to determine the series to which a plate belongs but a more difficult one to ascertain its place in the series. I therefore subordinate as superscript the series to the number in the series.

A comparison of the system here proposed with those used by Stein, Bütschli, Schütt, Paulsen and Fauré-Fremiet as applied in the concrete case of *Peridinium steini* will serve to elucidate the relative applicability and clearness of the several systems and their resemblances and differences.

An inspection of these systems will indicate that the advantages of the system here proposed lie, first, in the recognition of transverse series throughout, thus doing away with the confusion which has resulted in other systems in the nomenclature of the intercalary plates. This, for example, removes at once the difficulty into which Bütschli (1885, pp. 928—929, figs. 2 a, 2 c) fell in attempting to harmonize the plates of *Peridinium cinctum* (2 c) with his schema for the genus (2 a). A second advantage is the use of the cingulum rather than the equator for a basis. Since the plates are arranged with reference to the girdle and the girdle is not always equatorial

KOFOID (1909)	STEIN (1883)	BÜTSCHLI (1885) p. 928—929, Fig. 2a, 2c	SCHÜTT (1896)	PAULSEN (1906)	FAURÉ-FREMIET (1908)
Apicals, 1', 2', 3', 4'.	Frontalia, r, l, d', l.	Rautenplatte (r) + secondare ventrale Apicale (l) + dorsale Apicale (d) + secondare ventrale Apicale (4).	Rautentafel + Endtafeln.	Vordere Endplatten, Rautenplatte (r) + Endplatten 1 and 4 and Dorsalia (d).	Plaque en solange (a), apicale (c), frontale (b), apicale (c).
Intercalaries, 1°—3°.	Hintere Frontalia, l', d', l'.	SeitlicheApicalen (two) + dorsale Apicale d' (Fig. 2a), or (Fig. 2c) seitliche Apicale (2, zerfallene in 2a+2b), seitliche Apicale 3.	Endtafeln.	Vordere Endplatten 2 + 3 +?	Apicale c4 + Frontale b2 + apicale c3.
Precingulars, 1''—7''.	Basalia des Vorderleibes, b^1—b^7.	Praeequatoralen, I—VII.	Vordere Zwischentafeln.	Zwischenplatten (vordere) I—VII.	Antéquatorales, d2, d4, d6, d7, d5, d3, d1.
Postcingulars, 1'''—5'''.	Basalia des Hinterleibes, p^1—p^5.	Postequatoralen.	Hintere Zwischentafeln.	Zwischenplatten (hintere) I'—V'.	Postéquatorales, e2, e4, e5, e3, e1.
Antapicals, 1''''—2''''.	Endplatten, e, e'.	Antapicalen.	Endtafeln.	Hintere Endplatten 1' + 2'.	Antapicales, f2, f1.

in position, (for example in *Ceratocorys* and *Oxytoxum*) the terms pre-and postequatorial are neither significant nor generally applicable. Again, the terms employed for the several series are in themselves distinctive without the addition of limiting adjectives such as are necessary in the case of the other systems excepting only that of Bütschli. Finally, the continuous system of numbering applied throughout in each of the series is much less confusing and more easily used than the alternating system proposed by Fauré-Fremiet.

I am indebted the Smithsonian Institution at Washington for the privileges of their table at the Naples Station and to Dr. Dohrn and various members of the staff of the station for many courtesies and exceptional opportunities in the preparation of this paper.

Zoological Station, Naples. Feb. 24, 1909.

Bibliography.

Bütschli, O. (1888): Dinoflagellata. Bronn's Kl. u. Ordn. Bd. 1 Abt. II p. 906—1029 Taf. 51—55.

Entz, G. jun. (1907): A Peridineak Szervezetéröl. Allatani Kozlem. Vol. 6 p. 11—30 Pl. 2—4. German abstract. p. 49—50.

Fauré-Fremiet, E. (1908): Étude descriptive des Péridiniens et des infusoires ciliés du plankton de la Baie de la Hougue. Ann. Sci. Nat. Zool. Ser. 9 Vol. 7 p. 209—243 Pls. 15—16, 22 figs. in text.

Jörgensen, E. (1899): Protophyten und Protozoën im Plankton aus der norwegischen Westküste. Bergens Mus. Aarbog 1899 No. VI 112 LXXXIII p. 5 pls.

Kofoid, C. A. (1906): Dinoflagellata of the San Diego region. I. On *Heterodinium*, a new genus of the Peridinidae. Univ. Calif. Pub. Zool. Vol. 2 p. 341—368 pls. 17—19.

— (1906): On the significance of the asymmetry in *Troposolenia*. Univ. Calif. Publ. Zool. Vol. 2 p. 127—133.

— (1907): Reports on the scientific results of the expedition to the Eastern Tropical Pacific, in charge of Alexander Agassiz, by the U. S. Fish Commission Steamer "Albatross" from October, 1904 to March, 1905, Lieut. Commander L. M. Garrett, U. S. N. commanding. IX. New species of Dinoflagellates. Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard College Vol. 50 p. 163—207 pls. 1—17.

— (1907): The plates of *Ceratium* with a note on the unity of the genus. Zool. Anz. Bd. 32 p. 177—183 8 figs.

Paulsen, O. (1906): On some Peridinidae and Plankton Diatoms. Medd. Komm. Havundorsög. Vol. 1 No. 3 7 p. 9 figs.

— (1907): The Peridinales of the Danish Waters. Medd. Komm. Havundorsög. Vol. 1 No. 5 26 p. 33 figs. in text.

— (1908): Peridiniales. Nordisches Plankton von Brandt u. Apstein, XVIII p. 1—124. Mit 125 Textfiguren.

Pouchet, G. (1883): Contribution a l'histoire des cilio-flagellés. J. Anat. Physiol. Vol. 19 p. 399—455 pls. 18—21, 50 figs. in text.

Schütt, F. (1892): Über Organisationsverhältnisse des Plasmaleibes der Peridineen. Sitz.-Ber. d. Akad. Berlin Bd. 1892 p. 165—172 Taf. 1.

— (1895): Die Peridineen der Plankton-Expedition. Ergebn. d. Plankton-Exped. Bd. 4 M. a. A. 170 p. 27 pls.

— (1896): Peridiniales. Engler u. Prantl, Nat. Pflanzenfam. Leipzig. Teil I Abt. I 30 p. 43 figs.

Stein, F. R. v. (1883): Der Organismus der arthrodelen Flagellaten nach eigenen Forschungen in systematischer Reihenfolge bearbeitet. Der Organismus der Infusionstiere III. Abt. 2. Hälfte 30 p. 25 pls.

Explanation of plate.

Plate II.

Figures 1—11. *Peridinium steini mediterraneum*, from the same individual.

Fig. 1. Diagram of epitheca, apical view. 1'—4' apical series of plates; 1°—3° dorsal intercalary series; 1''—7'' precingular series; *ap. po.* apical pore; apical-precingular and intercalary-precingular suture marked with a heavy line; apical-intercalary suture with a dotted line.

Fig. 2. Diagram of hypotheca, antapical view. 1'''—5''' postcingular series of plates; 1''''—2'''' antapical series; *ant. sp.* antapical spine; *a. pl.* anterior plate; *m. pl.* median plate; *p. pl.* posterior plate; *s. pl.* sinistral plate; *v. a.* ventral area; *fl. po.* flagellar pore.

Fig. 3. Ventral view of theca showing plates and intercalary bands. *v. s.* ventral slit of apical pore; *g. pl.* girdle plate; *fl. po.* flagellar pore; *ant. sp.* antapical spine. × 685.

Fig. 4. Lateral view of the right side. Plates numbered as in figs. 1 and 2: *l. v. f.* left ventral fin; *ex. pl.* extramembranous plasma (?) or slime (?); *r. v. f.* right ventral fin; *r. d. l. f.* right dorso-lateral fin; *l. d. l. f.* left dorso-lateral fin. × 685.

Fig. 5. Dorsal view, showing plates and intercalary bands. 1°—3° dorsal intercalary plates. × 685.

Fig. 6. Ventral view of hypotheca showing intercalary bands and distribution of pores; *i. s.* intercalary striae; *v. a.* ventral area with anterior (*a. pl.*), median (*m. pl.*), posterior (*p. pl.*) and sinistral (*s. pl.*) plates; *g. pl.* girdle plate; *v. po.* ventral pore; *l.* girdle lists; *fl. po.* flagellar pore; *fl. sp.* flagellar spine; *sp.* spines at anterior ends of right ventral (*r. v. f.*) and flagellar (*fl. f.*) fins; *r. d. l. f.* and *l. d. l. f.* right and left dorso-lateral fins; *r. d. m. f.* and *l. d. m. f.* right and left dorso-median fins; *d. l.* distal lobe of right ventral fin. × 1370.

Fig. 7. Ventral view (slightly anterior) of theca showing intercalary bands and plates. The small figures along the margin show optical sections of the sutures (*s.*). × 685.

Fig. 8. Optical section of thecal wall at sutures. *o. z.*, *m. z.* and *i. z.* outer, middle and inner zones of the wall; *s.* suture; *po.* pore; *th.* thickenings along suture. × 2000.

Figs. 9—11. Optical sections showing contents and pusule apparatus. Fig. 9 at 10 A. M.), Fig. 10 two hours later, and Fig. 11 at 2.30 P. M.; *n.* nucleus; *rh.* rhabdosomes; *s. pus.* sack pusule; *c. pus.* collecting pusule; *c'* and *c''* canals of these pusules; *d. v.* daughter vacuoles; *ac. v.* accessory vacuole; *exp. fl.* extra plasmatic fluid. × 685.

The morphology of the skeleton of *Podolampas*.

By

Charles Atwood Kofoid,

Associate Professor, Department of Zoology, University of California, Berkeley.

(With Plate III.)

The transverse flagellum, a ribbon-like band of protoplasm that encircles the body of the dinoflagellate and functions as an organ of rotation, is not only a distinguishing character of the order but also has a profound effect upon the structure, and a fundamental relation to the morphology, of these flagellates. Its effect upon the structure is seen in the almost universal presence of a cingulum or girdle among the species of this order.

The girdle, in the naked Gymnodinidae is a groove or trough in the peripheral plasma encircling the body in one, or even more, flat or spiral turns. The girdle retains its strikingly characteristic form and fixed position on these delicate organisms throughout their active (locomotor) stages and disappears only in moribund individuals as cytolysis approaches.

In the skeleton-bearing forms it is usually marked by a trough or depression in the skeleton, of shallow form, as in *Acanthodinium*, or more or less deeply impressed into the skeletal wall as in many species of *Oxytoxum*, *Peridinium*, *Protoceratium*, *Steiniella*, *Ceratium and Peridinium*. The margins of the furrows of the girdles of the impressed type are guarded on either side by heavy lips or lists formed by projecting angles of the thecal wall. Sometimes the angle of the wall is carried out in a thin hyaline sheet, ribbed at regular

intervals with small spines, as in many species of *Heterodinium* and *Peridinium*. In many species of *Peridinium* and of *Phalacroma* and *Diplopsalis*, in fact very often in species of rotund type in a number of genera, the girdle is not in the least impressed but is protected upon either side by high membranous lists between which the transverse flagellum is carried. In the Dinophysidae, especially in *Ornithocercus, Histioneis* and *Citharistes*, the girdle lists are enormously developed and form an extra-thecal chamber of considerable size in which are lodged chlorophyll(?) bearing bodies, the so-called phaeosomes.

The girdle is not, however, of universal occurrence among the dinoflagellates. In the family Prorocentridae, composed of a few genera of littoral distribution and possibly degenerate in character, the girdle is entirely absent in the theca which shows no trace of any structures which might be regarded as a cingulum. The subfamily Podolampinae, composed of the genera *Podolampas* and *Blepharocysta*, of the family Peridinidae is likewise seemingly devoid of all girdle structures. There are no marginal ridges or lists and seemingly there is no trace of the band of girdle plates which is found in all other genera of the famly Peridinidae to which the subfamily Podolampinae belongs. Schütt (1896) in his diagnosis of this subfamily utilizes the absence of this band as a diagnostic character, but guardedly says „Gurtelband meist fehlend". He was influenced doubtless by a possible interpretation of the plates of *Blepharocysta striata* (Schütt 1895, Taf. 20 Fig. 59) where the three plates which I designate in this paper as postcingulars are regarded by him (see Schütt 1896, p. 24 Fig. 34c) as girdle plates, though such girdle plates are not recognizable in the other species of *Blepharocysta*.

This apparent absence of the girdle in the Podolampinae raises the interesting morphological question as to the fate of the girdle plates in this subfamily. The flagellum itself still lies (see Schütt 1895, Taf. 19 Fig. 56 and Taf. 18, Fig. 58_5) in a position upon the body where the pre- and postcingular series of plates meet, that is where the girdle is normally found, but there are seemingly no structural differentations to hold it in place in this exposed position.

With a view of throwing some light upon the fate of the girdle structures in the Podolampinae and also to make a thorough analysis of the skeletal parts of this imperfectly known division of the dinoflagellates I have availed myself of an opportunity to examine critically the structure of the thecal wall of one of the least known species of the genus, *Podolampas elegans* Schütt.

A full account of the internal morphology of *Podolampas elegans* was given by SCHÜTT (1895) who discovered the species presumably in the material of the Plankton Expedition, though its locality is not indicated. It has since been reported from the Mediterranean by LOHMANN (1902) at Messina, by PAVILLARD (1905) from Cette, from the Red Sea by SCHRÖDER (1906) and from the Atlantic by KARSTEN (1906). It occurs also in the plankton of the Pacific at San Diego. It is thus a species of wide distribution in warm seas. It is found sparingly (as elsewhere) in the winter plankton at Naples where the discovery of a nearly empty theca enabled me to obtain the results here recorded. The thecal wall is exceedingly hyaline and the plates and sutures can be made out with certainty only by actual separation. Weeks of maceration made it possible to complete a thorough analysis of the skeletal parts.

The body of this species like that of others in the genus is prolonged anteriorly into an apical horn (Pl. III figs. 3, 4) which rises from a midbody with approximately a circular outline, but flattened dorso-ventrally (Pl. III figs. 1, 2) so that the diameter in this axis is three fourths of the transdiameter. The body is without surface extensions of any sort except the two symmetrically placed subequal antapical spines (*r.* and *l. ant. sp.* Pl. II fig. 4) with their fins and the spine (*v. f. sp.* Pl. III fig. 7) of the ventral fin rising from the margin of the flagellar pore (*fl. po.* Pl. III figs. 4, 7).

The skeleton consists of the five transverse series of plates characteristic of the Peridinidae, to wit, the apical, intercalary, precingular, postcingular and antapical series, together with a group of small plates included in the region which has been called the „Mundspalte" or longitudinal furrow, for which in a previous paper (1909), I have proposed the name ventral area.

The apical plates (1′ and 2′ Pl. III figs. 1, 3, 4,) are bilaterally placed about the apical pore, are separated by a dorsal and a ventral suture and ventrally by a short wide ventral slit (*v. s.* Pl. III fig. 6) much shorter and wider than that shown in *P. reticulatum* (KOFOID, 1907). This slit is so wide that its margins in ventral or dorsal view are obscured by the optical section of the lateral walls. It is not shown in SCHÜTT's (1905) figures. Blocking the mouth of the apical pore incompletely is a small disc-like body or closing plate (*cl. pl.* Pl. III fig. 6) with nearly the same refractive index as the material of the thecal wall. It remained in place after the plasma contents of the horn had disappeared. It is possibly a part of the skeleton, and it should be sought in other species in the

family. The absence of clearly defined outlines of the apical pore in the figures of *Blepharocysta* of STEIN (1883) and SCHÜTT (1895) are suggestive of its presence in the species of that genus. The small central ring in STEIN's figure (1883 Taf. 8 fig. 4) may represent this platelet. The apical region of *Podolampas* is regarded by STEIN (1883) as composed of a single plate the "Frontale", and SCHÜTT (1896) says "Endplatten klein, zu einen kleinen Röhrchen verwachsen", but does not state the number of these end plates. There are two also in *P. reticulatum,* and it may prove to be the normal number for the genus.

The genus *Blepharocysta* has no prolonged apical horn and the foreshortening of this region has resulted in a great reduction of the apical plates. It is of significance that the apical region of the species of this genus also contains two recognizable bilateral parts as seen in the figure of *B. splendor maris* of STEIN above referred to and that of SCHÜTT (1895, Taf. 20 Fig. 592) of *B. striata,* in the region regarded by him as the apex (Apx), not that which he calls the apical plate (app.) which latter is in my opinion the intercalary plate. It seems probable that the presence of two apical plates is characteristic for the subfamily Podolampinae.

There is but a single intercalary plate (1^0, Pl. III figs. 1, 3) in *Podolampas elegans* near the base of the apical horn and slightly to the left, as in general in the Peridinidae in the case of this series of plates [cf. *Heterodinium* KOFOID (1906) and *Peridinium steini* (1909)]. It lies between the two apicals anteriorly and precingulars 3'', 4'' and 5'' posteriorly. It was not found by me until the apical horn itself had begun to be disassociated thus bringing to light the anterior suture. This is very difficult to see in the intact skeleton because of the fact that it is very oblique. This plate has not been indicated in any other species of *Podolampas.* It should be looked for in this region.

In STEIN's figure (1883, Pl. 8 fig. 4) of *Blepharocysta splendor maris* a small rectangular body is shown in this region of the epitheca and is, it seems, the homologue of plate 1^0 of *Podolampas* In SCHÜTT's figure (1895, Taf. 20 Fig. 59_2) of *B. striata* there is also a large plate, extended asymmetrically on the left side of the theca, lying between the two apical platelets (called by SCHÜTT the "apex") and the precingular plates 3'', 4'' and 5'' as in *Podolampas.* The left lobe of this region in SCHÜTT's figure is severed from the rest of the plate by a line similar to that used elsewhere in his figure for sutures. The distribution of the pores also suggests the existence

of a separate platelet. If this be true the intercalary series in *B. striata* contains two plates (1^0 and 2^0 in my nomenclature) instead of one as in *B. splendor maris* and *Podolampas.* The larger one (2^0) of the two, is, by virtne of its relations, the homologue of the single plate (1^0) of this series of other species of the subfamily Podalampinae. Schütt has called these plates in *B. striata* the apicals. It seems, however, that the apicals (in the restricted sense of my own nomenclature) are really represented by the bilateral "apex" region and that these larger plates are intercalaries 1^0 and 2^0.

The precingular series (1″—6″ Pl. III fig. 1) consists of a slender midventral plate (1″), two ventrals, 2″ and 6″, and three others in lateral and dorsal positions, 3″, 4″ and 5″. The slender midventral plate has not been before described for *Podolampas* though suggested in the heavier suture line in this region in my figure (1907) of *P. reticulata.* It should be sought in other species of the genus. A plate of similar location and proportions appears in Stein's figure (1883 Taf. 8, Fig. 4) of *Blepharocysta splendor maris* but is called by him "Intercalarstreif". It is, however, a separate skeletal element and in its relation to the ends of the girdle and to the ventral area occupies a position homologous to that of the rhomb plate of *Peridinium* but does not as in the case of the rhomb plate reach to the apical pore. It is therefore to be regarded as the first member (1″) of the precingular series. Six precingulars, the first of which is a slender element seems to be the norm for the Podolampinae.

Immediately behind the broad band (*cing.* Pl. III figs. 3—5) which borders the posterior margin of the precingular plates is a broad equatorial zone of three plates (Pl. III figs. 1—4, 1‴—3‴) which I call the postcingulars. Two of these, 1‴ and 3‴, are ventral in position and of smaller size while the third, 2‴, is dorso-sinistral and unusually large, the equivalent of several plates (3‴ and 4‴) in *Peridinium.* The relations of the meridional sutures in the epitheca, to those of the hypotheca suggest that this large plate 2‴ is the equivalent in the hypotheca of plates 3″ and 4″ in the epitheca. This same equatorial zone of three unequal plates occurs in other species of *Podolampas* and in *Blepharocysta.* In the latter genus, however, they are of very different size in different species. In *B. spendor maris* (see Stein 1883, Taf. 8, Figs. 3 and 5) the postcingulars extend over nearly the whole of the hypotheca from the equator nearly to the level of the flagellar pore which is located here near the antapex. In *B. striata* (see Schütt 1895, Taf. 20, fig. 59_1) the postcingular zone occupies less than one half of the hypotheca and the antapical

plates are correspondingly widened. SCHÜTT (1896 p. 23) states with regard to *Blepharocysta* that "Ringplatten fehlen, oder es sind drei vorhanden". He figures both species, but in *B. splendor maris* we find no possibility of any girdle plates in his or in STEIN's (1883) figures. We are therefore forced to accept the conclusion that the three narrow equatorial plates of *B. striata* (SCHÜTT 1895, Taf. 20, Fig. 59_1) which I have called postcingular are by him (1896) regarded as girdle plates, and the anteriorly extended antapicals (Fig. 59), whose number is unfortunately not given in his figures, are accordingly to be regarded in his interpretation as postcingulars (his hintere Zwischenplatten) while the lower end of the ventral area must be interpreted as the antapicals (his Endplatten). I believe this interpretation to be incorrect, and that the so-called girdle plates of *B. striata* are in reality the postcingulars to which they correspond in number and in all their relations, differing only in the matter of their width. This view of the plates of *B. striata* brings the theca of this species into agreement with that of *B. splendor maris* and into closer accord with *Podolampas.*

Behind the postcingular series is a group of four antapical plates (Pl. III figs. 2—4) 1''''–4'''', two, 1'''' and 4'''', on the ventral face, and two, 2'''' and 3'''', on the dorsal. The lateral meridional sutures separating the members of the ventral pair from those on the dorsal face lie in the median frontal plane parallel and close to the fins and can be detected only upon disassociation of the plates. They have not hitherto been discovered. SCHÜTT (1896) in his generic diagnosis states that there are two "endplates" in *Podolampas.* In *Blepharocysta splendor maris* STEIN (1883) figures but three antapicals. Those of the other species, *B. striata* SCHÜTT, are unknown.

The theca of *Podolampas,* in common with all Peridinidae has a region adjacent to the flagellar pore which has been called the longitudinal furrow plate, or Mundspalten. Together with the girdle plates it has been designated as the „Furchenpanzer" by SCHÜTT (1895). As it consists, for example in *Ceratium,* of far more than the pore or furrow plate I have proposed (1909) that it be called the ventral area.

In *Podolampas elegans* the ventral area (*v. a.* Pl. III fig. 2) forms an oblique tract on the ventral face of the hypotheca running posteriorly from the posterior end of precingular plate 1'' to the antapex. The two antapicals 1'''' and 4'''' being parted to receive the posterior portion in which the flagellar pore lies (Pl. III fig. 4).

This area is not a single plate but contains four recognizable subdivisions all of which I have disassociated, to wit, an anterior (*a. pl.*), a median (*m. pl.*), a sinistral (*s. pl.*) and a posterior plate (*p. pl.* Pl. III figs. 2, 4, 7). They correspond in a general way to the four subdivisions of the ventral area in *Peridinium steini* and I have accordingly given them the same names as in that species (see KOFOID 1909). The precise homologies of the parts to those in *Peridinium* are not certain especially in the case of the part called the sinistral plate. This might be considered as a member of the antapical series since it lies outside of the ventral fin and also bears an antapical spine. There is a possibility that its posterior lobe (*s. pl.'*) from which the spine springs is a distinct plate but I have not been able to separate it. The anterior plate indents the epitheca as in *Peridinium* and bears the same relation to the girdle (Pl. III fig. 4). The median plate is relatively much enlarged and extended posteriorly far beyond its development in *Peridinium steini*, possibly in connection with the extreme posterior position in *Podolampas elegans*, of the flagellar pore which it partially bounds in both species. The posterior plate (*p. pl.* Pl. III figs. 2, 7) is a minute segment immediately behind the flagellar pore. It bears the sinistro-median fin (*s. m. f.* Pl. III fig. 7) and upon detachment carries away a triangular segment out of the proximal end of the shaft of the left antapical horn. One of the leaders from the abbreviation *s. m. f.* is carried to this segment in figure 7. The sinistral plate (*s. pl.* Pl. III figs. 2, 3, 7) lies to the left not only of the flagellar orifice but also of its boundary ridges one of which forms the base line for the ventral fin (*v. f.*). It is also extended posteriorly to the antapex and laterally in a lobe (*s. pl.'*) from which springs the left antapical spine. Its position to the left of the fin and this posterior lobe have no parallel in *Peridinium*.

These subdivisions of the ventral area have not been previously determined for *Podolampas* though several of the parts are delineated in my figures (1907) of *P. reticulata*. Nor has the ventral area of *Blepharocysta* been subjected to similar analysis.

The question as to the presence or not of a band of girdle plates in *Podolampas* is one difficult of solution. The girdle region of the skeleton was subjected to close scrutiny under high magnification and with the best conditions of illumination and definition obtainable with natural and artificial light and with APATHY's method of using immersion oil between the slide and the condenser. The results of this analysis are shown in figure 5. In an optical section the

wall of the theca (*th. w.* Pl. III fig. 5) at the girdle region, that is, just anterior to the anterior margin of the postcingular series of plates, does not show the perfectly even contour seen elsewhere, but is thrown into two very slight undulations (*und.* Pl. III fig. 5) between which is a slight depression (*tr. f.*) which may represent the transverse furrow. This region coincides with that occupied by the transverse band of intercalary striae which lies anterior to the suture between postcingular plates and the apparent posterior margin of the precingular plates. Anterior to this band of striae is a zone about two thirds of its width bordered anteriorly by a faint granular line. In superficial appearance the zone and line are not unlike similar structures along other intercalary bands as in postcingular 1''' (Pl. III fig. 5). This zone is, however, wider than usual and more easily traced, and in optical section at the margin (*s.* Pl. III fig. 5) the wall appears to be traversed from this line by a suture which passes obliquely posteriorly through its substance. It seems that this broad band may represent a girdle band fused with the precingular plates. Prolonged maceration and treatment with weak potassium hydrate has not, however, brought about any separation of this region from the precingular plates to which it is attached. The fact that this suture has no intercalary band of its own offers additional evidence that the union is more intimate than in other sutures. The sutures between the apicals have no bands and are the last sutures to open. Additional reasons for regarding this band as the homologue of the girdle band are the facts that it is interrupted by the anterior plate (Pl. III fig. 4 *a. pl.*) of the ventral area and that the meridional sutures between the precingular plates as they enter this band are slightly dislocated in the fashion often seen in the girdle of other Peridinidae.

It therefore seems probable that this band between the postcingular plates and the problematical suture (*s'.* Pl. III fig. 5) which carries on its surface a shallow trough-like furrow, and along which the transverse flagellum lies as shown in Schütt's figure (1895 Taf. 19 Fig. 56_1) of *Podolampas bipes*, is the morphological equivalent of the girdle band or cingulum of other Peridinidae. The girdle band is then not missing or reduced as stated by Schütt (1896) but rather fused with the adjacent precingular plates. How far these conditions are realized in other species of *Podolampas* and in *Blepharocysta* remains to be determined.

The complex internal structure and the high degree of differentiation found in the form and distribution of the pores in the

thecal wall indicate that this subfamily Podolampinae is not a primitive one but rather a highly differentiated one derived from typical Peridinidae. One of the characters in which differentiation has occurred is the loss of girdle lists and the seeming disappearance of the girdle plates. It is a striking illustration of the lingering effect of ancestral conditions that traces of the cingulum still persist here in these minute details of the skeleton of these microscopic unicellular organisms.

The intercalary bands (*int. bd.* Pl. III fig. 5) of *Podolampas elegans* are found as shown in figures 3 and 4, along practically all the sutures except those between the plates of the apical series. They usually lie only on one side of the suture. Exceptions to this appear in the case of the midventral sutures between 1'' and 6'', 2'''' and 3'''' and 1''' and the ventral area, where they appear on both sides of the suture line. The intercalary bands are figured by STEIN (1883) in *P. bipes* as double on all of the meridional sutures of the precingular series. In *P. elegans* I find them only upon the right side of the suture, except in the case of the suture 2''—3'' where they are upon the left and 5''—1'' above noted where they are on both sides. In the postcingular series the meridional sutures have the bands to the right also, except in 1'''—2''',' where they are to the left as in suture 2''—3'' directly anterior, and along the midventral suture between the ventral area and 1''' where they lie on both sides as in the suture 6''—1'' above. The margins of the antapical plates 1''''—4'''' have bands on all sides.

The finer structure of the striae and sutures is shown in figure 5. Along each suture line is found on one side a band of striae and an outer pore-free border (*bord.*) faintly margined, and on the other the denticulate, ragged, overlapping edge of the adjacent plate. The sutures or lines of union of the edges of the contiguous plates are not in the planes of radii from the center of the midbody but are rather oblique to them. In all of the transverse sutures the cleft passes distally from the inner surface outward obliquely toward the poles as I have also shown (1909) to be the case in *Peridinium steini*. The overlapping edge (*ov. edge*) is thus wider than the thickness of the wall and forms a larger surface for adhesion. In the meridional sutures as in the transverse, the ragged margin of the overlapping edge rests upon the outer part of the intercalary band of the contiguous plate. As the plates are separated in maceration the non-striate margin is seen to bear a series of hyaline projections or denticles (*dent.*) of various lengths and widths. They correspond in number

and position, and roughly also in dimensions, to the light areas between the dark bands of the striae of the opposite plate as will be seen along suture 1‴—2‴. They are, it seems, bands which unite the contiguous plates.

The bands of striae (*int. st.*) consist ot blocks of darker substance (*d.*) alternating with narrow lighter bands (*l.*) arranged in more or less orderly array at the edge of the plate. The lighter bands and the pore-free border (*bord.*), set off from the rest of the plate by a faint granular lines do not differ in appearance from the body of the plate. The denticles also have the same hyaline appearance. The dark striae are slender and often irregular in the girdle region but form wider blocks in the meridional sutures where, as along 2″—3″ they are often regularly spaced. They offer no visible structural differentiation beyond the darker color. It was not possible to detect the least irregularity in the surface of the band. They do not appear to form ridges though the existence of the denticles suggests the probability of shallow depressions at the outer ends of the light areas. The ends of the dark striae are slightly overlapped along the suture by the adjacent plate. The dark striae are apparently differentiated in the texture of the wall and are not due to localized increase in thickness.

The pores of *Podolampas elegans* exhibit the unique differentiation which these structures appear to possess in several other species in the subfamily, namely that each transverse zone of plates has its own distinctive type of pores. In the apical zone the pores (*po.* Pl. III fig. 6) seemingly are minute, elongated in the direction of the main axis, and pass obliquely posteriorly through the wall. They are also relatively abundant. In the precingular series they are much larger (*po.* Pl. III fig. 5) also plainly elongated here in the longitudinal direction and less oblique. They show a tendency to a linear arrangement in the anterior ends of plates as in *Podolampas reticulata* and *Blepharocysta striata.* They are of fairly uniform size throughout the plates, except anteriorly. The larger pores of the midventral region prominent in *P. bipes* and *P. reticulata* are not found in *P. elegans.* The girdle plate is free from pores. The postcingular plate is apparently free from pores but under best conditions of illumination a number of scattered exceedingly minute pores can be detected In the upper median angle of 3‴ there is a small cluster of larger pores. In *P. bipes* and *P. reticulata* both 1‴ and 3‴ bear a group of larger pores toward their median margins. The antapicals 1⁗—4⁗ each bear a very prominent band of pores (*po. bd.* Pl. III figs. 4, 7) consisting

of a double line of very close set, alternating, rather larger pores. The high refraction of this band of pores and their zigzag arrangement give a peculiarly dazzling optical effect which obscures their structure. Except in *P. reticulata* they have not been previously analyzed. STEIN (1883) calls them "peculiar comb-like furrows" (a statement followed by PAULSEN (1908) in his recent monograph), evidently seeking in them the missing girdle. Their position at the level of the flagellar pore and the peculiar turn in the median end of the band in 4'''' in a position corresponding to the distal end of a girdle lends force to such an interpretation. They have, however, nothing to do with the girdle. In the ventral area the pores are abundant only in the sinistral plate.

The differentiation of the pores in the skeleton of *Podolampas* is correlated with an unusual degree of internal differentiation and the distribution and movements of the plasma.

In the apical horn the plasma is small in amount and the pores are minute. In the midbody is found the nucleus, and a complicated pusule apparatus (see SCHÜTT 1895, Taf. 18, Fig. 57_3), and the processes of metabolism require here a larger area in the pores. The precingular belt and the midventral region is accordingly supplied with a large number of pores of considerable size. It may be significant as indicating the lines of movement of fluids through the plasma that principal porulate area lies on the ventral face near the nucleus and distally on the shoulders of the epitheca. In SCHÜTT's figure of the cell contents of this species (Fig. 57_1) many of the linear rhabdosomes of the epitheca lie with their outer ends directed toward the porulate precingular zone but widely distributed. Another group of rhabdosomes lies in the hypotheca but they appear to be grouped with their outer ends close to the pore bands of antapical plates.

In *Podolampas* the phenomenon of protoplasmic extrusion from the flagellar pore attains a high degree of development (see SCHÜTT, 1895. Taf. 19, fig. 56). It may be significant in this connection that the principal porulate areas with large pores (especially in *P. pipes* and *P. reticulata*) lie near the region of extrusion and afford a ready means for the readjustment of the equilibrium of fluids within the cell body after such movements.

The antapical spines (*ant. sp.* Pl. III fig. 4) are enlarged distally, the left more than the right. They appear to be composed of the same substance as the thecal wall. In the case of the left spine slender extensions of the substance of the spine pass from its distal

end forming marginal rims (*m. r.* Pl. III fig. 7) on the distal parts of the sinistro-lateral fin (*s. l. f.*) and ventral fin (*v. f.*). Similar rims are developed along the margin of the sinistro-lateral fin and both fins of the right spine in *P. reticulata.* A few faint circular reticulations (*ret.*) are found near the base of the sinistro-lateral fin. Reticulations are highly developed in the fins of *P. reticulata* and possibly along the left spine of *P. palmipes* but are absent elsewhere in the subfamily. The ventral fin is decurrent anteriorly upon a heavy rib on the thecal wall running anteriorly from the flagellar pore (fig. 7). Its outer margin adjacent to the pore bears a curious spine-like thickening (*v. f. sp.*) which, however, is heavier distally than near its base. Upon the dorsal side of the left spine is a narrow dorsal fin (*d. f.*) not before noted in the Podolampinae. There is but slight distal curvature in the antapical spines similar to that found in *Peridinium steini* which serves to throw the organism upon its broader face in sinking.

I am indebted to the Smithsonian Institution for the privileges of a research table at the Naples Zoological Station and also to Dr. Dohrn and other members of the staff for many kindnesses during preparation of this paper.

Conclusions.

The skeleton of *Podolampas elegans* consists of two apical, one intercalary, six precingular, three postcingular, four antapical plates, and a ventral area in which four subdivisions are recognizable: instead of one apical, five precingulars, three postcingulars and two antapicals and a longitudinal furrow plate as heretofore stated.

The missing girdle is represented by a narrow band fused to the lower ends of the precingular plates. On the surface of this band which is in the place along which the transverse flagellum passes, is a very shallow furrow.

The so-called (Schütt) girdle of *Blepharocysta striata* is in reality the band of three postcingular plates.

The "comb-like furrow" of Stein is a band of peculiar alternating pores on the antapical plates.

The pores are highly differentiated and are distributed with reference to the movement of fluids and plasma of the cell body. The

plates are united by oblique sutures with overlapping edges and denticles intercalated between the elements of the bands of striae. These striae represent differentiations in the substance of the wall rather than ridges on its surface.

Zoological Station, Naples. March 6, 1909.

Bibliography.

KARSTEN, C. (1906): Das Phytoplankton des Atlantischen Ozeans. Wiss. Ergebn. d. deutsch. Tiefsee-Exped. Bd. 2 Teil 2 p. 137—219 Taf. 20—34.

KOFOID, C. A. (1906): Dinoflagellata of the San Diego region. I. On *Heterodinium*, a new genus of the Peridinidae. Univ. Calif. Publ. Zool. Vol. 2 p. 341—368 pls. 17—19.

— (1907): Reports of the scientific results of the expedition to the eastern tropical Pacific, in charge of Alexander Agassiz, by the U. S. Fish Commission steamer "Albatross", from October 1904 to March, 1906, Lieut. Commander L. M. Garrett, U. S. N., commanding. IX. New species of Dinoflagellates. Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard College Vol. 50 p. 163—207 pls. 1—17.

— (1909): On the Morphology of *Peridinium steini* with a note on the nomenclature of the skeleton of the Peridinidae. Arch. f. Protistenk. Bd. 16 p. 45—47 Taf. 3.

LOHMANN, H. (1902): Neue Untersuchungen über den Reichtum des Meeres an Plankton und über die Brauchbarkeit der verschiedenen Fangmethoden, zugleich auch ein Beitrag zur Kenntnis des Mittelmeerauftriebes. Wiss. Meeresuntersuch., Abt. Kiel, N. F. Bd. 7 p. 1—86 Taf. 4.

PAVILLARD, J. (1905): Recherches sur la flore pélagique (phytoplankton) de l'etang de Thau. Travail de l'Institut Bot. de l'Universite de Montpellier, et de la Stat. Zool. de Cette, Serie Mixte, Mem. No. 2 116 p. 1 carte 3 pls.

PAULSEN, O. (1908): Peridiniales. Nordisches Plankton von BRANDT u. APSTEIN XVIII p. 1—124. Mit 155 Textfiguren.

SCHRÖDER, B. (1906): Beiträge zur Kenntnis des Phytoplanktons warmer Meere. Vierteljahrschr. Zürich Bd. 50 p. 319—377 46 Fig.

SCHÜTT, F. (1895): Die Peridineen der Plankton-Expedition. Ergebn. Plankton-Exped. Bd. 4 M. a. A. 170 p. 27 Taf.

— (1896): Peridiniales. ENGLER u. PRANTL. Nat. Pflanzenfamilien Teil I Abt. I 30 p. 43 Fig.

— (1883): Der Organismus der arthrodelen Flagellaten nach eigenen Forschungen in systematischer Reihenfolge bearbeitet. Der Organismus der Infusionstiere, III. Abt. II. Hälfte, 30 p. 25 Taf.

Explanation of Plate.

Plate III.

All figures of the same individual of *Podolampas elegans* SCHÜTT.

a. pl. = anterior plate of ventral area.
ant. sp. = antapical spine.
ap. po. = apical pore.
bord. = border.
cing. = cingulum.
cl. pl. = closing plate.
D. = dorsal.
dent. = denticles.
d. f. = dorsal fin.
fl. po. = flagellar pore.
g. pl. = girdle plate.
int. bd. = intercalary band.
int. st., d. and *l.* = intercalary striae, dark and light.
L. = left.
l. = lumen.
l. ant. sp. = left antapical spine.
m. pl. = median plate of ventral area.
m. r. = marginal rim.
ov. edge. = overlapping edge.
p. pl. = posterior plate of ventral area.
po. = pore.
po. bd. = pore band.
R. = right.
r. ant. sp. = right anterior spine.
ret. = reticulations.
s. = suture.
s'. = fused (?) suture.
s. pl. = sinistral plate of ventral area.
s. l. f. = sinistro-lateral fin.
s. m. f. = sinistro-median fin.
th. w. = thecal wall.
tr. f. = transverse furrow.
und. = undulation.
V. = ventral.
v. a. = ventral area.
v. f. = ventral fin.
v. f. sp. = ventral fin spine.
v. s. = ventral slit.
1'—2' = apical plates.
1° = intercalary plate.
1''—6'' = precingular plates.
1'''—3''' = postcingular plates.
1''''—4'''' = antapical plates.

Fig. 1. Diagram of plates in apical view. × 540.

Fig. 2. Diagram of plates in antapical view. × 540.

Fig. 3. Dorsal view of skeleton. × 540.

Fig. 4. Ventral view of skeleton, reconstructed from partially disassociated plates and subject to some minor errors in adjustment of plates. × 540.

Fig. 5. Sinistro-median portion of skeleton in ventral view along cingulum showing disassociated plates. × 2100.

Fig. 6. Apical horn in surface view and optical section. × 2100.

Fig. 7. Ventral part of hypotheca about flagellar pore including left antapical spine, antapical plate 1'''', and ventral area, seen from the dorsal side. × 2100.

Die Bacterienkerne und die „cloisons transversales“ GUILLIERMOND's.

Von
Dr. **Em. Mencl** (Prag).

Die vorliegenden Zeilen bieten gar nichts Neues dar, was unsere Kenntnisse über die Kernstruktur oder die Umwandlungen derselben bei den Bacterien erweitern könnte — ich fühle mich jedoch zur Veröffentlichung derselben durch eine unlängst in diesem Archiv veröffentlichte Abhandlung von GUILLIERMOND gezwungen, welche „Contribution à l'étude cytologique des Bacilles endosporés“ betitelt ist. Es scheint mir, als ob der genannte Forscher die von VEJDOVSKÝ und hauptsächlich gewisse von mir veröffentlichte, diesen Gegenstand betreffende Aufschlüsse einerseits nicht genug berücksichtigt hätte oder manche von denselben etwas kühn oder unrichtig beurteilt und endlich, was ich fürs Schlimmste halte, die von seinen Angaben abweichenden. von mir und anderen Autoren beschriebenen Verhältnisse in seinem Sinne aprioristisch interpretierte, indem er sie früher etwas modifizierte (sogar die Abbildungen!), um dann alles auf sein Schema überzuführen. Ich fühle mich zu einer Antwort nicht etwa meiner Person halber veranlaßt, sondern einzig und allein nur aus dem Grunde, damit nicht etwa eine noch größere Verwirrung in den bisherigen Anschauungen über die Cytologie der Bacterien verursacht werde. Unsere diesbezügliche Kenntnisse sind doch einerseits recht spärlich, andererseits sind dagegen die Angaben einzelner Forscher voneinander außerordentlich verschieden — ja man kann ohne weiteres sagen, daß sogar dann, wenn einige Autoren zu einer ziemlich übereinstimmenden

Ansicht kommen, ihre Aufschlüsse über die Details und zwar manchmal recht wichtige, voneinander abweichend genug zu sein pflegen. Bei dieser wenig erfreulichen Sachlage halte ich es direkt für schädlich, fremde Beobachtungen, von denen man bisher keineswegs nachgewiesen hat, sie seien in dieser oder anderer Richtung hin weniger richtig, entweder unberücksichtigt zu lassen, unrichtig zu interpretieren oder sogar für a priori irrtümlich zu halten — alles dies nur aus dem Grunde, weil sie mit dem anderen Materiale, mittels anderen Methoden gewonnenen Resultaten nicht übereinstimmen. Das sind in gröbsten Umrissen die alleinigen Motive, die mich zur Veröffentlichung dieser Zeilen zwingen.

So kurz als möglich will ich, anstatt gegen einzelne Punkt der citierten Guilliermond'schen Abhandlung zu polemisieren, vom neuen einige Stellen aus meinen früheren Arbeiten betonen. Ich habe schon damals alle Schwierigkeiten berücksichtigt, welche wirklich eine nicht unbedeutende Unsicherheit der Resultate bedingen und dadurch auch gleichzeitig an der manchmal schroffen Ansichtendifferenz zwischen verschiedenen Autoren schuld sind.

Es sind hauptsächlich zwei Umstände, welche hier mitspielen, und zwar erstens die bisherige Auffassung des Wesens der Bacterien überhaupt und zweitens die Technik mit ihren Unsicherheiten und Unvollkommenheiten. So kann fast allgemein angenommen werden, daß die parasitischen (symbiotischen) Bacterien, in ihrem natürlichen Medium fixiert, der Färbung keinen Widerstand zu leisten pflegen, wie es bei den aus einer künstlichen Kultur genommenen der Fall ist; weiter ist bekannt, daß sich gewisse Arten relativ leicht und distinkt vital färben, oder intramortal, während eine ganze Menge von anderen Arten auf die bei solchen Gelegenheiten üblichen Farben überhaupt nicht reagieren, manchmal wieder findet man ganz klare und regelmäßige Kern- und Teilungsfiguren, während andere Male dasselbe recht eigentümlich ausschaut und äußerst schwer erklärlich wäre, usw. Ich muß bemerken, daß viele diesbezügliche Anspielungen in meinen Arbeiten Guilliermond völlig entgangen sind, wodurch sich so vieles in seinem obenerwähnten Aufsatze erklären kann. Leider bin ich durch andere Arbeiten daran verhindert, die angeführten und noch andere hierher gehörende Fragen systematisch zu studieren.

Auf Grund von vielen neueren sowie auch älteren Arbeiten über Bacterien erscheint es berechtigt daran zu zweifeln, ob alle bisher bekannten Bacterienarten wirklich selbständige Species sind und man darf entschieden die Behauptung in Abrede stellen, daß

die bisherigen Species immer dieselbe Gestalt, Eigenschaften und Bau behielten. Es wäre überflüssig hier von neuem die kolossale Reihe von Autoren zu citieren, die bei verschiedenartigen Bacterien ihre Variabilität unter verschiedenen Lebensbedingungen wiederholtermaßen bewiesen haben. Es sind dies hauptsächlich die Veränderungen der Kolonienform und gleichzeitig auch tief eingreifende Veränderungen der Form der einzelnen Stäbchen, die durch verschiedene Nährböden hervorgerufen werden. Ich habe ein recht frappantes Beispiel dieser Verhältnisse bereits in meiner Abhandlung „Cytologisches über die Bacterien der Prager Wasserleitung“ citiert, nämlich die Untersuchungen von Walker und Murray (British medical Journal 1904, Nr. 2270), wie sich *Bacterium coli* und die Cholera- und Typhuserreger auf verschiedenen Nährböden mit verschiedenen Farbstoffen versetzt, benehmen. Hier hat sich nicht nur die Form vom Grund aus gänzlich geändert, sondern es sind auch andere wichtige Merkmale verschwunden und andere aufgetaucht, wie z. B. die Geißeln usw. Man kann sogar den ganzen Chemismus der Bacterien umkehren, so daß unter gewissen Kultivationsbedingungen z. B. die Anaëroben zu Aëroben werden. Es läßt sich ohne weiteres voraussetzen, daß unter solchen Umständen auch die innere Organisation verschiedenen, und zwar vielleicht erheblichen Veränderungen unterliegt.

In meiner obenerwähnten Abhandlung sage ich (Zentralbl. f. Bacteriol. etc. Bd. XV 1905, p. 549), wie folgt: „Wenn man die große hierher gehörende Literatur überblickt, muß man unmittelbar und sicher zu der Überzeugung kommen, daß die Bacterien überhaupt, und somit auch die pathogenen einerseits große Variabilität besitzen und andererseits auch einen Entwicklungscyclus. ... Es ist nicht unmöglich, daß die verschiedenen Krankheitserreger bloß ein bestimmtes Entwicklungsstadium irgendeiner sonst unschädlichen Microbenart sind — womit manches Unklare zu einer ganz plausiblen Sache werden könnte — z. B. das regelmäßige periodische Auftreten mancher Epidemien usw.“

Was den zweiten in dem soeben angeführten Citate berührten Umstand anbelangt, nämlich die Möglichkeit eines komplizierten Entwicklungscyclus (wobei selbstverständlich die unwissenschaftliche Klassifikation der in Rede stehenden Organismen, von der Variabilität derselben abgesehen, die die Form allein berücksichtigt, erst recht absurd erscheinen müßte), so muß ich vom neuen an auf die für ihre Zeit vorzügliche Publikation des Franzosen Billet aufmerksam machen, die im Jahre 1890 erschienen ist und die einen

recht komplizierten Entwicklungscyclus hauptsächlich für die *Cladothrix dichotoma*, sowie andere Bacterien hervorbrachte. Sogar die inneren Vorgänge werden bei den verschiedenen Stadien beschrieben, obzwar sich der Autor einer einfachen Färbung mit Jodsolutionen oder höchstens mittels Methylviolett 5 B, Vesuvin oder Fuchsin bediente. Diese französische Arbeit (im Bulletin scientifique de la France et de la Belgique, XXI. Bd. 1890) ließ Guilliermond auch vollkommen unbeachtet. Wie erwähnt, hat Billet einen geschlossenen Evolutionscyclus gefunden und stellt uns mit Wort und Bild die allmählichen Übergänge von einem Stadium ins andere dar. Ähnliches und am ähnlichen Materiale habe ich in meiner oben citierten Arbeit, die leider nicht zum Schlusse gelangte, bei den Cladotricheen und anderen Bacterien des Moldauwassers konstatieren können.

Bei einer und derselben Art können also tiefgreifende Variationen auftauchen, einerseits durch die Lebensweise, andererseits durch die Entwicklung der Bacterien bedingt. Um so mehr kann man annehmen, daß man bei verschiedenen Bacterienarten verschiedenen inneren Strukturen, somit auch verschiedenen Kernverhältnissen begegnen wird. Wenn nunmehr Guilliermond die von Vejdovský und mir gewonnenen Resultate zu negieren trachtet, weil er glaubt, am anderen Materiale andere Resultate erreicht zu haben, so kann ich leider nicht anders, als dieses Vorgehen als durchwegs unrichtig zu bezeichnen.

Schon früher habe ich vielmals zugegeben, daß nicht alle Bacterien gleich gebaut sein brauchen, womit ich auch gesagt habe, daß ich weit davon entfernt bin, etwa meine Resultate, obzwar alle bei einer ganzen Reihe von verschiedenen Bacterien gleich waren, zu generalisieren. Dies nicht zu tun, gebietet schon die wissenschaftliche Objektivität allein. Zum klaren Ausdrucke gelangte diese meine Überzeugung in den Schlußworten meines Aufsatzes im Archiv für Protistenkunde „Eine Bemerkung zur Organisation der Periplaneta-Symbionten" betitelt. Dort habe ich ausdrücklich gesagt (p. 198):

„Eins ist jedoch heute schon sicher, daß nämlich die Bacterien keineswegs alle gleich gebaut sind, daß also keine noch so klare Aufschlüsse, die man an einigen Arten gewinnt, auf andere Arten appliziert werden dürfen. . . ."

Swellengrebel zweifelt zwar nicht an der Richtigkeit meiner Angaben, indem er sagt „so daß es nun, auch nach den Ergebnissen von Meyer und Mencl als erwiesen gelten kann, daß bei einem

(wenn auch vielleicht kleinen) Teile der Bacterien echte Kerne vorkommen"[1]) — bemerkt aber doch wiederholt, daß solche Resultate nicht generalisiert werden dürfen. In dieser Beziehung stimme ich also mit Swellengrebel, geradeso wie in noch einigen Punkten, vollkommen überein. Umgekehrt jedoch behandelt die Sache Guilliermond, wenn er seine Resultate verallgemeinert und dabei so weit geht, daß er sogar fremde klare Angaben zu leugnen versucht.

Außerdem könnte ich noch darauf hinweisen, daß Guilliermond nur gewisse Resultate aus einer ganzen Menge anderer nach seinem Belieben berücksichtigt. So habe ich z. B. in meiner schon mehrmals citierten Arbeit über die Bacterien der Prager Wasserleitung eine ganze Menge von unzweideutigen und über jeden Zweifel sicheren Kernen und typischen Kernteilungen abgebildet und beschrieben. In seiner letzten Contribution à l'étude cytologique etc. läßt er diese in ihrer Klarheit fast allein dastehenden Angaben vollkommen unbeachtet, obzwar er schon früher diese meine Aufschlüsse nicht nur citierte, sondern sogar meine Originalfiguren übernommen hatte, und zwar in seiner Übersicht „La cytologie des Bactèries (Bulletin de l'Institut Pasteur, Bd. IV, 1907).

Die Resultate an den Cladotricheen ähneln in gewisser Hinsicht ganz auffallend den von mir an *Periplaneta*-Symbionten und *Bacterium gammari* erworbenen Tatsachen. Trotzdem aber sind meiner Überzeugung nach die an den Cladotricheen gewonnenen Bilder die überzeugendsten. Ich weise nur auf einige wenige aus den zahlreichen Abbildungen hin, welche meine in Rede stehende Arbeit begleiten. So z. B. Fig. 2 α—δ, Fig. 6, Fig. 23, 25, 26, 27 etc. (Taf. I bis IV) schließen jeden Zweifel von dem Vorhandensein eines echten, typischen, ruhenden und in Teilung begriffenen Kerns aus. Um so mehr muß ich bedauern, daß Guilliermond letzthin diese Sachen ganz außer acht gelassen hat.

Die Methode einiger Gegner der Kernhaltigkeit von Bacterien ist die, alle Fälle, wo ein Kern unzweifelhaft vorhanden ist, als nicht zu Bacterien gehörende Organismen zu behandeln, und umgekehrt, wo man die Bacteriennatur nicht leugnen konnte, leugnete man den Kern. Diesen Umstand habe ich in meiner zweiten Arbeit über die Organisation der *Periplaneta*-Symbionten näher besprochen (Arch. f. Protistenkunde Bd. X, 1907, p. 189—192). Auf die erstgenannte Weise trat man gegen das *Bacterium gammari* von Vejdovský auf, die andere machte man gegen die *Periplaneta*-Symbionten

[1]) Centralbl. f. Bacteriol. etc. XIX 1907 II. Abt. p. 200.

geltend. Und es war GUILLIERMOND, der, obzwar ihm meine diesbezüglichen Präparate zugeschickt wurden, die Kerne ganz leugnet und mich einer falschen Beobachtung beschuldigt. In der soeben citierten Arbeit habe ich nach einem wiederholten, sorgfältigsten Studium der Präparate nachgewiesen, daß die von mir beschriebenen Kerne Gebilde sind, die von den „cloisons transversales" GUILLIERMOND's streng auseinander gehalten werden müssen. Die „cloisons" habe ich bei dieser Gelegenheit glücklicherweise auch aufgefunden, beschrieben und l. c. an Fig. 13—17 in ein Paar Bildungsstadien reproduziert. Trotzdem aber hält GUILLIERMOND an seiner willkürlichen Erklärungsweise meiner Befunde fest — ja er hat sich neuerdings (l. c. p. 21) ein Schema gebildet, wo er seine „cloisons" aus den von mir beschriebenen Kernstrukturen abzuleiten sucht! Dagegen muß ich mich entschieden verwahren, weil er meine Originalbilder unrichtig auffaßt und wiedergibt und äußerst willkürlich verändert. Ich brauche an dieser Stelle auf meine diesbezüglichen Abbildungen hinzuweisen und zwar nicht nur die von *Periplaneta*-Symbionten, sondern auch, und zwar noch klarer, weil das Objekt viel günstiger war, auf die Tafelbilder meiner „Nachträge zu den Strukturverhältnissen von *Bacterium gammari* VEJD." (Arch. f. Protistenkunde Bd. VIII, 1907). In diesen beiden Abhandlungen habe ich, wie uns schon ein flüchtiger Überblick der Tafel belehrt, einen zentralgelegenen Kern beschrieben, der eine sichtbare Kernmembran besitzt und zwei große oder mehrere kleinere Chromatinkugeln enthält. Außerdem habe ich ein Zentralkorn, das die Teilung einzuleiten scheint, gefunden. Fast denselben Verhältnissen begegnete ich bei den *Periplaneta*-Symbionten.

So schauen die Sachen auf meinen Tafeln aus. Ganz anders ist es nach dem obenerwähnten Schema GUILLIERMOND's. Anstatt eines typischen Kerns zeichnet er als Ausgangspunkt seiner Cloisonsbildung zwei der Zellmembran anliegende Punkte! Jeder Unbefangene, der sich dieses „Schema" anschaut, wenn er dabei meine Abbildungen kennt, muß zugeben, daß GUILLIERMOND hier mehr als übertrieben hat. Wie er aber trotzdem die Kernabbildungen bei den Cladotricheen in sein „Schema" hineinbringen könnte, bleibt mir ein Rätsel.

Vergleicht man die verschiedenen Resultate, so muß man erkennen, daß sich die von VEJDOVSKÝ und mir erfreulicherweise fast vollkommen mit vielen anderen Angaben decken. Obzwar z. B. SWELLENGREBEL bisher fast ausschließlich nur eigentümliche Spiralen (wie z. B. neuerdings auch DOBELL [Notes on some parasitic Protists.

Quarterly Journ. Micr. Science LII. 1. 1908] bei seinem *Bacillus flexilis*) als Kernäquivalente beschrieben hat, so sei trotzdem darauf hingewiesen, daß andererseits manche Strukturbilder von *Bacterium binucleatum* denen von Vejdovský und mir veröffentlichten Fällen gleich sind (Centralblatt f. Bacteriologie II. Abt. XIX. 1907). Außer diesem Falle, der der neueren Literatur angehört, sei es mir gestattet, nur noch auf die Abbildungen von Mitrofanov aufmerksam zu machen, welche auch leider nur wenig Beachtung gefunden haben. Auf seinen Tafeln (O sostavnich častjach bakterialnich organizmov, Warschau 1893) finden wir Fälle abgebildet, welche einerseits an die Befunde von färbbaren Spiralen seitens Swellengrebel, Dobell und Guilliermond erinnern (l. c. Fig. 46, 4 c, 28 usw. an der Taf. I) und andererseits finden wir ebendaselbst Abbildungen, die jenen von Vejdovský und später von mir veröffentlichten Befunden fast gleich sind (z. B. in auffallender Weise die Fig. 7 b an der Taf. II). Man sieht daraus klar, daß die Befunde von einem typischen, zentral gelegenen Kern keineswegs auf falscher Beobachtung zu beruhen brauchen, was ich auch von den spiralartigen Gebilden nicht behaupten will, sondern daß bei den Bakterien die Spiralgebilde neben den typischen Kernen und umgekehrt vorkommen können.

Bei dieser Gelegenheit kommt noch etwas in Betracht. Bei Dobell (l. c.) finden wir in den Fällen, wo eine Spirale vorhanden ist, verschiedene Modifikationen derselben. In gewissen Stadien (seine Abb. 20 a—c) finden wir eine glatte chromatische Spirale in dem Bakterienleibe (*Bacillus spirogyra*), welche sich gleichzeitig mit dem Stäbchen teilt, so daß immer die Hälfte der Chromatinspirale in jedes Tochterstäbchen übergeht. Ähnliche Spirale, jedoch in einzelnen Stadien verschieden — einmal mehr oder weniger varikos, mehr oder weniger kompakt und einheitlich (Fig. 13—15 *Bacillus flexilis*) — finden wir bei anderen Arten (so auch bei *Sphaerotilus natans* bei Swellengrebel, Comptes rend. d. l. Soc. d. Biol. Paris T. LXV. 1908). Ich halte es nun für äußerst nötig, auf einige Tatsachen vom neuen an hinzuweisen, die ein wenig Licht in die Sache bringen können, und die ich an den Cladotricheen beobachtet habe.

Ich habe meinerseits (l. c. Taf. I—IV) verschiedene Stadien von Cladotricheenfäden und Stäbchen abgebildet, die nicht nur den Abbildungen von den Chromatinspiralen ganz ähnlich sind, sondern sogar eine gewisse Erklärung der in Rede stehenden Frage enthalten. So habe ich an meiner Fig. 21 einen Faden abgebildet, der auf eine sehr lange Strecke einen in der Längsachse gelegenen blauen Streifen enthält, welcher etwas varikos ist und hie und da

unregelmäßig zerstreute dunkle Körnchen aufweist. Dieser Streifen verliert in weiterem Verlaufe seine Kontinuität, indem er in kleinere, fast ganz gleiche Abschnitte zerfällt. Noch weiter sehen wir diese chromatischen Abschnitte, manchmal etwas schraubenartig gewunden, von einer blaßblauen Masse (Plasma) umgeben. Wo nun diese chromatischen Abschnitte in diesem mehr merkbaren Plasma zu liegen kommen, dort wird auch die dunkle Körnelung schärfer und auffallender, wogegen die Achse selbst an Färbbarkeit etwas verliert. An solchen Chromatinabschnitten finden wir nun manchmal die chromatische Substanz in kleinen Kugeln konzentriert, in Form gewisser Nucleolen (Fig. 20). Hier und da findet man Fälle, die eine unregelmäßige und scharf ausgeprägte Spirale enthalten, die mit größeren oder kleineren Chromatinkugeln dicht besetzt ist (Fig. 28). Solche Chromatinanhäufung beginnt manchmal an beiden Enden des Chromatinstreifens (Fig. 22b) oder aber in der Mitte (Fig. 22a, die dritte Zelle von unten). Später trägt jeder von den Chromatinabschnitten mehrere sehr dunkel gefärbte Nucleolen (Fig. 14). In manchen Cladothrixfäden finden wir in gewissen Zellen die Nucleolen noch dem Chromatinabschnitte aufsitzend, in anderen Zellen desselben Fadens ist der Abschnitt schon nicht mehr vorhanden, jedoch die Reihenfolge der Nucleolen, das heißt die Orientation derselben in der Längsachse der Zelle und somit auch des Fadens bleibt trotzdem noch erhalten (Fig. 19). Manchmal erscheint die Chromatinanhäufung als kleine Körner, wie früher beschrieben, später aber nehmen sie an der Masse und Zahl so bedeutend zu, daß sie längliche dichte Chromatinkonglomerate bilden (Fig. 18a, b). Dies findet man nun in den Fäden. Daß dasselbe auch bei den Stäbchen vorkommt, zeigt u. a. auch meine Fig. 51, wo ein ziemlich regelmäßiger Spiralfaden chromatischen Charakters in einem Stäbchen enthalten ist, der nahe dem Pole einen dunklen Nucleolus trägt.

Aus dem soeben Geschilderten geht deutlich hervor, daß ebenso, wie in gewissen Fällen ganz typische Kerne vorhanden sind, man in anderen Stadien Spiralen begegnet, die anfangs blaß, später dunkle Körnelungen aufweisen, aus welchen dann noch später sehr starke Chromatinanhäufungen werden, wobei gleichzeitig der ursprüngliche blasse Streifen oder Spirale allmählich gänzlich verschwindet. Es sind dies ähnliche Vorgänge, welche Vejdovský neuerdings in seinen „Neuen Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung“ betont hat und in dem ersten Kapitel des allgemeinen Teiles der genannten Monographie in einer überraschend klaren Weise dargelegt hat. Ich selbst wurde auf den Gedanken, daß die

an dieser Stelle geschilderten und analysierten Vorgänge auch bei den Bacterien im Spiele sein werden, von Vejdovský selbst geführt, und bin überzeugt, daß nur die sorgfältigsten Studien der gesamten Entwicklung der Bacterien, in allen Stadien und allen Lebensverhältnissen klares Licht in die strittige Sache werfen werden und beweisen, daß die von Vejdovský und mir geschilderten typischen Kerne keineswegs im Widerspruche zu den Chromatinspiralen der Bacterien stehen, sondern daß beide Formen nur als Ausdruck von verschiedenen Kernstadien aufgefaßt werden müssen. Es sei mir nur noch gestattet, hinzuzufügen, daß ich alle meine bisherigen Befunde trotz der unbegründeten Erklärungsweise Guilliermond's aufrecht halte und daß ich es für unbegründet, ja unzulässig finde, die typischen Kerne bei gewissem Bacterienkreise entweder zu leugnen, oder dieselben anders erklären zu wollen.

Bemerkung.

Auf meine direkte Anfrage an meinen hochgeehrten Lehrer und Chef, Prof. Vejdovský, wie sich eigentlich die Sache mit der abweichenden, bei Gelegenheit des Berner Kongresses geäußerten Anschauungsweise seitens des leider so früh verstorbenen Forschers Schaudinn, verhält, hat mir der Obengenannte folgendes mitgeteilt:

„Nach dem Abschlusse meines Vortrages hat sich der Anwesende Schaudinn gegen meine Deutung des in Frage stehenden Organismus als eine Bacterienart gewissermaßen skeptisch verhalten und die Meinung ausgesprochen, es handle sich eigentlich um eine neue Art von Sproßpilzen. Andere Anwesende, wie z. B. Schewjakoff, der sich bekanntlich ebenfalls mit den Spaltpilzen befaßte, haben sich über den bacteriellen Charakter des Organismus entschieden zustimmend ausgesprochen. Nach der Besichtigung der vorgelegten Präparate hatte sich nachher auch Schaudinn dieser Ansicht angeschlossen; aus diesem Grunde ist es erklärlich, daß Schaudinn seine Einwände nicht veröffentlichte und sich einfach meinem Antrage angeschlossen hatte, es wäre angezeigt, den Organismus an Ort und Stelle, d. h. an dem Garschinasee selbst einer eingehenden Prüfung zu unterwerfen.

Soweit mir bekannt ist, war Guilliermond nicht anwesend, und ich weiß nicht, wer ihn über die ursprüngliche Stellungnahme Schaudinn's gegen das *Bacterium Gammari* unterrichtet hatte."

Prag, den 5. November 1908.

(Aus dem Zoologischen Laboratorium der kaiserl. Akademie der Wissenschaften zu St. Petersburg.)

Studien über parasitische Protozoen.

III. Beobachtungen über die Vorgänge der Schizogonie bei Gregarinen aus dem Darme von *Amphiporus* sp.

Von

S. Awerinzew,

Privatdozent der Zoologie an der Universität St. Petersburg.

(Hierzu Tafel VI und 3 Textfiguren.)

Bei dem Studium der Fortpflanzung verschiedener Gregarinen fand ich unter anderem im Darmkanale von *Amphiporus* sp. (aus dem Kola-Fjord) eine interessante Form, welche allem Anschein nach den uns bekannten Vertretern der Gattung *Selenidium* sehr nahe steht (Textfig. A).

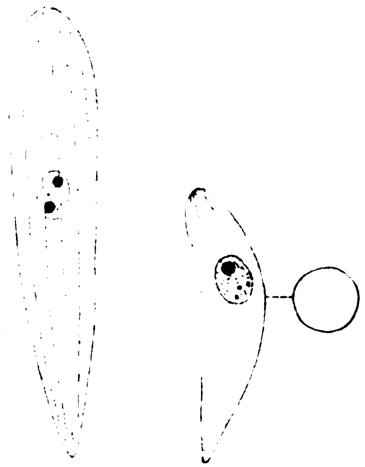
Die Ähnlichkeit zwischen der von mir gefundenen Gregarine und den *Selenidium*-Arten besteht hauptsächlich in dem Vorhandensein von wohlausgebildeten Myonemen bei diesen wie auch bei jener.

Während wir jedoch bei *Selenidium* bisher fast keine reproduktiven, auf geschlechtlichem Wege gebildeten Cysten kennen, ist es mir gelungen, derartige Cysten bei den Gregarinen aus dem Darme von *Amphiporus* nachzuweisen. Solche Cysten haben mir nur in einigen wenigen Exemplaren vorgelegen und dabei nur in den frühesten Stadien, so daß der Vorgang der Sporenbildung bei dieser Gregarine noch ganz dunkel bleibt; aus diesem Grunde läßt sich

auch nichts Bestimmtes über ihre Stellung im Systeme aussagen (Textfig. B).

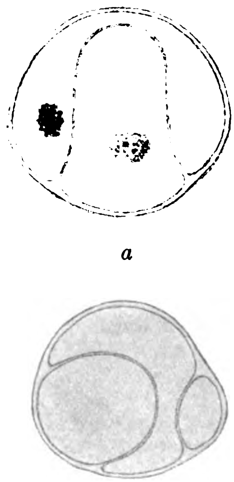
Die Cysten entstehen im hinteren Abschnitte des Darmkanals von *Amphiporus*, während alle später in ihnen vor sich gehenden Prozesse augenscheinlich bereits außerhalb des Darmes der Nemertinen stattfinden.

Während der Untersuchung des Darmes von *Amphiporus* fertigte ich mehrere Strichpräparate an, welche ich mit Delafield'schem Hämatoxylin färbte.



a *b*

Textfig. A, *a* u. *b*.
Erwachsene Gregarinen aus dem Darme von *Amphiporus* sp.



a *b*

Textfig. B, *a* u. *b*.
Schnitt durch eine zwei Gregarinen aus dem Darme von *Amphiporus* sp. enthaltende Cyste.

Bei der Durchsicht dieser Präparate fiel mir auf, daß in dem Protoplasma der genannten Gregarinen stark färbende Körperchen zu bemerken sind, welche einigermaßen halb an Kerne, halb an Chromatinkörner erinnern.

Allein solche Präparate gaben keinerlei Hinweise auf Details in der Struktur der erwähnten Einflüsse.

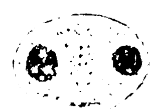
Ich war nunmehr gezwungen, einerseits unter Anwendung der gleichen Färbung zur Anfertigung von Schnitten zu greifen, andererseits aber zum Studium der Strichpräparate andere Färbemethoden anzuwenden, von welchen die Färbung mit Heidenhain'schem Hämatoxylin die besten Resultate ergab.

Soweit ich auf Grund meiner Präparate annehmen kann, ist es mir gelungen, den größten Teil der in dem Protoplasma vor sich gehenden Prozesse bei der von mir gefundenen Gregarine zu verfolgen, welch letztere sich auf vegetativem Wege vermittels eigenartiger Schizozoiten fortpflanzt.

Meine Beobachtungen über die genannte Gregarine, wie auch über eine ganze Reihe anderer Arten, konnten aus verschiedenen Gründen bei weitem noch nicht zu Ende geführt werden; ich bin gegenwärtig damit beschäftigt, eine umfangreiche Arbeit für den Druck vorzubereiten, welche die Fortpflanzung bei dieser Protozoengruppe behandelt; da ich indessen gleichzeitig durch zahlreiche andere Arbeiten in Anspruch genommen bin und die Bearbeitung des gesamten vorhandenen Materials sich in die Länge ziehen dürfte, halte ich es für angebracht, schon jetzt die hauptsächlichsten Ergebnisse meiner Beobachtungen über die Gregarinen aus dem Darme von *Amphiporus* mitzuteilen.

Der Kern dieser Gregarine enthält in den meisten Fällen zwei polar angeordnete Caryosome (Textfig. C).

Im Innern dieser letzteren kann man auf wohlgelungenen, gut differenzierten Präparaten eine oder mehrere Vacuolen bemerken und in der Substanz des Caryosoms selbst gelingt es bisweilen zwei nicht scharf voneinander abgegrenzte Teile zu unterscheiden, einen stärker und einen weniger stark färbbaren Abschnitt.



Textfig. C.
Kern einer Gregarine aus dem Darme von *Amphiporus* sp. in der Periode des vegetativen Lebens.

Meiner Ansicht nach steht sowohl die Vacuolisierung, wie auch die Differenzierung des Chromatins der Caryosome (nämlich in Plastin und eigentliches Chromatin) in unmittelbarem Zusammenhange mit den assimilierenden vegetativen Prozessen im Organismus der Gregarine.

Die Caryosome können infolge verstärkter Vacuolisierung in kleinere Teile zerfallen, gleichsam durch Teilung oder Knospung.

Was das Protoplasma der Gregarinen aus dem Darme von *Amphiporus* betrifft, so kann man in demselben bisweilen gar keine, selbst bei starker Vergrößerung deutlich erkennbare Chromatinbezirke unterscheiden, in anderen Fällen dagegen kann man in dem Protoplasma eine größere oder geringe Anzahl solcher Bezirke bemerken, (Taf. IV Fig. 1).

Bei dem Auftreten von extranucleärem Chromatin sind die größten Anhäufungen desselben in der Nähe des Kernes der Gre-

garine zu beobachten; in solchen Fällen wird die Kernmembran dünner und scheint sogar bisweilen ganz zu verschwinden.

Ferner kann man in der Umgebung solcher ihr Chromatin verlierender Kerne bisweilen eine Art von schwacher Strahlung bemerken; solche Bilder erinnern sehr an die Abbildungen und Beschreibungen der Degeneration von Gregarinen, wie sie unter anderen bei Kuschakewitsch (1907) zu finden sind.

Allein die nachstehend dargelegten Beobachtungen scheinen mir darauf hinzuweisen, daß wir es im gegebenen Falle durchaus nicht mit degenerativen Prozessen zu tun haben.

Um die aus dem Kern in das Protoplasma der Gregarine übergetretenen Chromatinbestandteile herum beginnt sich das Protoplasma allmählich zu gruppieren, so daß diese Chromatineinschlüsse sich schließlich als innerhalb unregelmäßig begrenzter Protoplasmabezirke liegend erweisen (Taf. IV Fig. 3).

Weiterhin beginnen die Chromatinkörperchen augenscheinlich miteinander zu verschmelzen und lassen so bedeutend größere Gebilde entstehen (Taf. IV Fig. 4, 5).

Bilder solcher Verschmelzungen der Chromatinbestandteile sind ziemlich häufig zu beobachten, und zwar kann man dieselben sowohl auf denjenigen Stadien sehen, wo das sie umgebende Protoplasma nur unregelmäßig begrenzt ist, als auch dann, wenn die betreffenden Protoplasmabezirke sich bereits abgerundet und gleichsam von dem Körper der Gregarine abgesondert haben (Taf. IV Fig. 2, 10, 11, 12).

Das Protoplasma der erwähnten sich absondernden Bezirke färbt sich äußerst schwach und es ist mir nicht geglückt, die Bildung irgendeiner Hülle um dieselben zu bemerken.

Die Chromatinkörperchen verschmelzen entweder alle zusammen zu einem zentralen Körperchen (Taf. IV Fig. 4), oder es bilden sich mehrere Verschmelzungszentren, wobei die Körperchen miteinander zuerst zu drei, dann zu zwei und hierauf erst zu einem einzigen Bezirke verschmelzen (Taf. IV Fig. 13, 14).

Es ließen sich natürlich, wenigstens einige dieser Stadien, als nicht durch Verschmelzung entstanden erklären, sondern im Gegenteil als durch ein Zerfallen der Chromatinkörnchen, doch widersprechen einer solchen Annahme alle nachfolgenden Bilder, welche im Innern der Gregarinen aus dem Darme von *Amphiporus* sp. zur Beobachtung gelangten.

Auf späteren Stadien verwandelt sich das Chromatinkörperchen in den abgesonderten Protoplasmabezirken in ein Gebilde, welches an einen Kern erinnert, und in der Umgebung dieses letzteren tritt

eine in den meisten Fällen bemerkbare helle, für Farbstoffe nicht empfängliche Zone auf (Taf. IV Fig 7, 15).

In der genannten Zone gelingt es bisweilen, eine radiäre Strahlung zu bemerken, in welcher ich nichts anderes erblicken kann, als Querschnitte durch die Wandungen der das Chromatinkörnchen umgebenden Waben (Tafel IV Fig. 6).

Nach der Bildung solcher Kerne beginnen die obenerwähnten protoplasmatischen Bezirke sich zu teilen.

Es ist einstweilen ganz unmöglich, den gesamten Cyclus dieser Teilungen in seiner ganzen Aufeinanderfolge festzustellen und man wird sich einstweilen mit der Beschreibung ihrer einzelnen Stadien begnügen müssen.

Die Zahl der in dem Körper der Gregarine entstehenden einzelnen Protoplasmabezirke ist anfänglich nur gering, es sind deren nicht mehr wie ein bis zwei Dutzend. Späterhin erreicht ihre Zahl hundert und mehr Bezirke.

Eine derartige Zunahme der Zahl von solchen Bezirken erkläre ich mir durch aufeinanderfolgende Teilungen; dabei unterscheidet sich der Verlauf einer jeden nachfolgenden Teilung einigermaßen von der vorhergehenden Teilung.

Gewöhnlich, aber nicht immer, ist an dem Prozesse der Kernteilung ein Gebilde beteiligt, welches an ein Centrosom erinnert; dasselbe entsteht, soviel ich bemerken konnte, aus dem Kerne und begibt sich erst später nach einem der Pole der in Rede stehenden protoplasmatischen Gebilde, wo es sich in zwei sich voneinander entfernende Teile teilt (Taf. IV Fig. 8, 15, 9, 17).

Derartige, die Rolle kinetischer Zentren spielende Bildungen treten häufig bei der Teilung der protoplasmatischen Gebilde auf (Taf. IV Fig. 18, 23, 31, 34, 42, 49, 50, 51 (?), 52, 53).

In denjenigen Fällen jedoch, wo solche Gebilde fehlen, war deren Anwesenheit höchst wahrscheinlich aus verschiedenen zufälligen Nebenursachen von mir nicht bemerkt worden.

Im Anfange, wenn die von mir in dem Körper der Gregarinen gefundenen Einschlüsse eben erst beginnen sich zu teilen, nimmt der Kern den größten Teil ihres Körpers ein, das Protoplasma färbt sich schwach und während der Teilung kann man keine eigentlichen protoplasmatischen Teile bemerken, indem so zu sagen der gesamte Einschluß von dem in der Teilung begriffenen Kerne eingenommen wird (Taf. IV Fig. 18, 19).

Ich zweifle nicht daran, daß auch in diesen Fällen eine, wenn auch kleine protoplasmatische Zone vorhanden ist, welche den sich

teilenden Kern umgibt, vermute aber, daß dieselbe infolge ihres negativen Verhalten Farbstoffen gegenüber sowie ihrer äußerst geringen Dimensionen wegen nicht bemerkt worden ist.

Je größer die Zahl der Teilungen ist, welche die hier beschriebenen Einschlüsse in dem Protoplasma der Gregarine durchmachen, um so länger wird auch die Teilungsspindel und um so deutlicher wird der Kern von dem Protoplasma abgegrenzt (Taf. IV Fig. 51, 34, 49, 52 u. a. m.).

In Anbetracht der Eigenartigkeit der Teilungsvorgänge habe ich es für wünschenswert erachtet, auf der hier beigegebenen Tafel die Abbildungen recht zahlreicher Fälle von Teilungen der beschriebenen Gebilde zu geben; alle diese Fälle zu beschreiben und dieselben in ein System zu bringen, ist mir indessen einstweilen noch nicht möglich.

Auf den ersten Stadien der Teilung sieht man zahlreiche einzelne Chromosome (Taf. IV Fig. 18, 19), ebenso sind, wenn auch nur undeutlich, achromatische Fäden der Spindel zu bemerken.

Auf den nachfolgenden Stadien läßt sich die Zahl der Chromosome entweder gar nicht feststellen, oder aber man kann bemerken, daß es ihrer schon viel weniger sind.

Von Interesse ist ferner namentlich die Tatsache, daß in den von mir beobachteten Fällen von Teilungen, ein Zerfallen der Chromatingebilde in zwei Gruppen deutlich zutage tritt; dabei kann man sogar feststellen, daß dann, wenn die Chromosome leicht zu unterscheiden sind, ihre Zahl in jeder Gruppe von Chromatingebilden meistens die gleiche ist (Taf. IV Fig. 21, 31, 52).

Wir haben es hier demnach mit Teilungen zu tun, welche ihrem Wesen nach den von Loewenthal (1903) und Vahlkampf (1905) beschriebenen Teilungen sehr nahe stehen.

Eine solche Teilung des Chromatins in zwei Gruppen läßt sich auch noch weiter verfolgen, und zwar bis zur Bildung von Schizozoiten (Taf. IV Fig. 56, 59).

Zeitweilig ist in der Teilungsspindel der von Flemming und Kostanecki beschriebene „Zwischenkörper“ deutlich zu unterscheiden (Taf. IV Fig. 50, 51, 53), wobei sich dieser späterhin in zwei Hälften teilt (Taf. IV Fig. 34, 52).

Auf Grund einer Vergleichung mit dem Verlaufe der Teilung in anderen Fällen wird man annehmen können, daß der Unterschied in den Chromatingebilden von deren verschiedenem Ursprunge abhängt, d. h. die einen entstehen aus dem Chromatin des Caryosoms, die anderen dagegen aus dem außerhalb dieses letztgenannten Ge-

bildes in dem Kerne verteilten Chromatins; der „Zwischenkörper" dagegen stellt gewissermaßen den Rest des Caryosoms dar. Es ist mir indessen wegen der geringen Größe des ruhenden Kernes nicht gelungen, dessen Struktur zu erkennen, so daß wir uns in dieser Hinsicht mit Voraussetzungen begnügen müssen.

Auf späteren Stadien der Teilung verschmelzen die beiden differenzierten Teile des Chromatins wiederum miteinander und es gelingt nicht mehr dieselben voneinander zu unterscheiden (Taf. IV Fig. 34, 50, 53, 61).

Nach Beendigung der Teilung wird auch das Protoplasma durchgeschnürt, wobei die auf diese Weise gebildeten einzelnen Bezirke eine im Vergleich zu den ersten Teilungsprodukten der beschriebenen Gebilde mehr in die Länge gestreckte Gestalt besitzen. Dabei ist zu bemerken, daß der Ursprung einiger der von mir gefundenen langgestreckten, spindelförmigen einzelnen Bezirke, welche ihrer Gestalt nach etwas an sich teilende Gebilde erinnern, bis jetzt für mich ganz rätselhaft erscheint (Taf. IV Fig. 20, 30, 41, 23, 60). Höchst wahrscheinlich haben wir es auch hier mit irgendwelchen Teilungsstadien zu tun.

Nach einer Reihe fortgesetzter Teilungen, deren Zahl bei verschiedenen Exemplaren von Gregarinen eine verschiedene ist, wobei es schließlich zur Bildung von einzelnen Bezirken verschiedener Größe kommt, verwandeln sich die zu beschreibenden Gebilde in Schizozoiten.

Diese letzteren haben eine längliche Gestalt mit abgerundeten Enden und sind oft etwas biskuitförmig eingeschnürt usw., und zwar so, daß diese Einschnürung nicht ganz in der Mitte der Schizozoiten verläuft (Taf. IV Fig. 24—29, 45, 56, 58, 59).

Der Kern der Schizozoiten liegt gewöhnlich im Niveau der soeben erwähnten Einschnürung, demnach etwas näher an einem der Pole (Taf. IV Fig. 48, 59 u. a.); dieser Kern besitzt eine bald ganz regelmäßige, runde Gestalt, bald ist er jedoch biskuitförmig; in letzterem Falle ist der Zusammenhang seiner Chromatinelemente mit den Chromatinelementen von zweierlei Art in dem sich teilenden Kerne deutlich zu sehen. In äußerst seltenen Fällen ist der Kern nach einem der beiden Pole verlagert (Taf. IV Fig. 27), was ich nicht einmal für eine normale Erscheinung ansehen kann.

An einem Pole des Schizozoits (äußerst selten an beiden) befindet sich gewöhnlich ein großes, für Farbstoffe gänzlich unempfängliches Gebilde, welches aller Wahrscheinlichkeit nach eine eigenartige Vacuole darstellt.

Wenn die Schizozoiten vollständig entwickelt sind, begeben sie sich zu der Pellicula der Gregarine und legen sich mit demjenigen ihrer Pole an dieselbe an, an welchem die erwähnte Vacule liegt; die Längsachsen ihrer Körper stehen dabei senkrecht zu der Oberfläche der Gregarine (Taf. IV Fig. 58, 59).

An dem Pole, wo die Vacuole liegt (viel seltener an dem entgegengesetzten Pole) befindet sich ein kleines, stark färbbares Körperchen; von diesem letzteren zum Kerne verläuft innerhalb der Vacuole ein dünner, bald stark, bald schwach färbbarer Faden (Taf. IV Fig. 27, 29, 36, 58, 59); bisweilen kann man erkennen, daß dieser Faden nicht nach dem Kerne verläuft, sondern nach dem am entgegengesetzten Pole befindlichen färbbaren Körperchen (Taf. IV Fig. 47).

Da ich mehrmals Schizozoiten beobachtet habe, welche dem in der Fig. 46 (Taf. IV) abgebildeten Schizozoit entsprechen, so vermute ich, daß der erwähnte Faden längs dem Schizozoit verläuft, um den Kern herumbiegt und einen speziellen Faden noch diesem letzteren abgibt.

Das Austreten der Schizozoiten aus dem Körper der Gregarine habe ich nicht beobachtet, allein in dem Darminhalt von *Amphiporus* fand ich mit Gregarinen mehrmals schizozoitenähnliche Gebilde, jedoch ohne Vacuole und Fäden (Taf. IV Fig. 48, 55). Hieraus schließe ich, daß aller Wahrscheinlichkeit nach sowohl der Faden wie auch die Vacuole Vorrichtungen darstellen, welche dem Sporozoiten bei dem Verlassen des Gregarinenkörpers nach Durchbohrung seiner Pellicula Dienste leisten.

Einige der von mir gefundenen Gebilde stellen natürlich in der Bildung begriffene Schizozoiten dar (Taf. IV Fig. 54, 62, 40, 44, 39); es fällt einstweilen schwer, alle Stadien dieses Prozesses genau zu verfolgen und einige solcher Körperchen können ebenfalls als Stadien in der Bildung der Schizozoiten oder aber als durch Degeneration resp. durch die Präparation deformierte Gebilde angesehen werden (Taf. IV Fig. 24, 28, 35, 37, 38).

Die Schizozoite sind, wie ich bereits bemerkt habe, von ungleicher Größe; bei den einen Exemplaren von Gregarinen aus *Amphiporus* habe ich Macro- (Länge 3—4 μ), bei anderen Microschizozoiten (Länge 1,5—2 μ) angetroffen.

In dem Auftreten solcher Schizozoite erblicke ich einen Hinweis auf den Dimorphismus der sich später aus ihnen entwickelnden geschlechtlichen Individuen, wenn auch der Dimorphismus dieser letzteren im erwachsenen Zustande vielleicht nicht mehr zu konstatieren sein dürfte.

Die hier beschriebenen Gebilde wird man natürlich auch für keine Schizozoiten, sondern für irgendwelche Parasiten der Gregarinen halten können, solange ihre fernere Entwicklung nicht aufgeklärt ist. Allein gewisse Eigentümlichkeiten ihrer Struktur, welche unter anderem an die Struktur der Schizozoite von *Aggregata eberthi* erinnert (nach Léger und Duboscq 1908), sowie die nahe Verwandtschaft unserer Gregarinen mit *Selenidium*, wo eine Schizogonie nachgewiesen worden ist, veranlassen mich in ihnen keine Parasiten, sondern besondere Stadien einer vegetativen agamen Fortpflanzung zu erblicken.

Was nun den Kern der Gregarinen betrifft, so lassen sich während der gesamten Entwicklung der Schizozoite nur wenig Veränderungen in demselben erkennen, mit Ausnahme des Verlustes eines gewissen Bruchteiles seines Chromatins. In der Zeit, wo die Mehrzahl der Sporozoite sich ausgebildet hat, fängt der Kern der Gregarinen, welcher bis dahin die Rolle eines Regulators der vegetativen Prozesse gespielt hat, offenbar an zu degenerieren, indem er den größten Teil seines Chromatins einbüßt.

Da es mir nicht gelungen ist, den Prozeß des Austretens der Schizozoite aus der Gregarine zu beobachten, so ist mir auch das fernere Schicksal des Kerns unbekannt geblieben; es unterliegt jedoch für mich keinem Zweifel, daß daraufhin sowohl der Kern, als auch die ganze Gregarine zugrunde gehen.

Die Untersuchung des hier beschriebenen agamen Prozesses wird späterhin unzweifelhaft Resultate ergeben, welche für die Erkenntnis der Rolle und der Bedeutung der verschiedenen Chromatingebilde von außerordentlicher Wichtigkeit sind, indem hier außer der Chromidialsubstanz, aus welcher die zukünftigen Kerne der geschlechtlichen Individuen hervorgehen (und zwar Kerne mit zweierlei — trophischem und reproduktivem — Chromatin), auch noch Kerne von dimorphen (♂ und ♀) Individuen zur Bildung gelangen.

In Anbetracht der großen Wichtigkeit dieser Fragen habe ich mich denn auch entschlossen, ohne die Beendigung meiner Studien abzuwarten, schon jetzt einige der von mir erzielten Ergebnisse mitzuteilen und die Aufmerksamkeit der Fachgenossen auf Arten von Gregarinen zu lenken, welche den hier beschriebenen nahestehen.

Dezember 1908.

Literaturverzeichnis.

1907 Kuschakewitsch, S.: Beobachtungen über vegetative, degenerative und germinative Vorgänge bei den Gregarinen des Mehlwurmdarms. Arch. f. Protistenk., Suppl. 1.

1908 Léger, L. et Duboscq, O.: L'évolution schizogonique de l'Aggregata (Eucoccidium) eberthi (Labbé). Ibid. Bd. 12.

1903 Loewenthal, W.: Beiträge zur Kenntnis des Basidiobolus lacertae Eidam. Ibid. Bd. 2.

1905 Vahlkampf, E.: Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von Amoeba limax. Ibid. Bd. 5.

Tafelerklärung.

Tafel IV.

Fig. 1—62. Die Erklärung der Figuren ist bereits im Text gegeben worden. (Zeiss Hom. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 18.)

Struttura, biologia e sistematica di *Anoplophrya paranaidis* n. sp.

(Infusorio olotrico, parassita di *Paranais elongata* mihi.)

Pel

Dott. **Umberto Pierantoni,**

Libero docente — Conservatore nell' Istituto Zoologico dell' Università di Napoli.

(Colle tavole V—VI.)

Il Prof. Schewiakoff nel suo studio sistematico sugli Infusorii Aspirotrichi pubblicato nel 1896, disgraziatamente non molto noto perchè scritto in lingua russa, osserva che il genere *Anoplophrya* è assai poco studiato, sebbene ne siano state descritte varie specie, nello stabilire le quali non si tenne conto dell'organizzazione, ma solo dell' habitat di esse. A tale giusta osservazione dello Schewiakoff è da aggiungere che gli esemplari che or l'uno or l'altro autore potette avere a sua disposizione furono oggetto quasi sempre di un semplice e sommario esame sul vivo, non sufficiente per una buona identificazione delle specie stesse. Ed ancor oggi, dopo tredici anni dalla pubblicazione della citata memoria, persiste la deficienza di conoscenze sulla struttura di *Anoplophrya*. Oltre ai pochi dati già antichi forniti da A. Schneider e Balbiani non si trovano che notizie anch' esse brevissime e limitate a pure descrizioni della forma del corpo e degli organelli, dovute a recentissimi lavori di Léger e Duboscq, Cépède e Fauré-Fremiet.

Nel presente lavoro cercherò di portare un primo contributo allo studio della organizzazione di una specie del genere, che reputo

---

[1]) p. 380.

nuova e che rinvenni nello stomaco di una nuova *Paranais* del Golfo di Napoli, da me stesso recentemente descritta (1909). Dando alle osservazioni un indirizzo prevalentemente anatomico ho cercato di contribuire alla conoscenza della struttura di questi protozoi del tutto ignota, la quale mi sembra anche di un certo valore per la risoluzione di interessanti problemi che riguardano la interna organizzazione e la interpretazione delle parti che costituiscono il corpo degli Infusorii ed in particolar modo del Macronucleo, che ha un aspetto così caratteristico in *Anoplophrya*.

Metodi.

L'osservazione a fresco è certamente uno dei migliori metodi per lo studio di questi, come in generale per tutti i protozoi, però pur essendo stato quasi l'unico metodo usato fino ad ora per osservazioni sugli olotrichi della famiglia degli *Anoplophryinae*, non è da escludere che esso possa indurre in errore, essendo assai facile che i protozoi parassiti subiscano notevoli modificazioni, pur restando in vita, immediatamente appena tratti fuori dalle cavità in cui hanno sede abituale, per essere trasportati nell'ambiente liquido in cui vive il loro ospitatore.

Lo studio sul vivo darebbe ottimi risultati se potesse esser fatto mentre gli animali albergano ancora nel loro ospite, ma le pareti stomacali alquanto spesse e fornite di plessi sanguigni non sono abbastanza trasparenti da permettere l'osservazione dei minuti dettagli della interna struttura, onde è necessario isolare i parassiti per potere compiere con profitto lo studio sul vivo.

In cambio la condizione di essere parassiti, data la loro estrema piccolezza, facilita assai il compito di ottenere delle buone sezioni e dei preparati in toto, mediante preparazioni dell'intero stomaco isolato e debitamente colorato e diafanizzato.

Per queste colorazioni in toto mi son valso a preferenza dell'emallume del MAYER, dell'emacalcio e del carminio boracico, coi quali coloranti ottenevo un'ottima colorazione del macronucleo e del micronucleo; di quest'ultimo assai meno intensa che del primo.

La debole colorazione delle parti più superficiali permetteva uno studio accurato della parti più interne, mercè l'ottima diafanizzazione ottenuta con l'euparal.

Ma, come ho accennato, di grande utilità mi furono le sezioni sottili, praticate attraverso porzioni del verme ospitatore comprendenti dal 5⁰ al 10⁰ segmento, e, talora, attraverso tutta la parte del corpo comprendente i primi dieci segmenti.

Come metodi di colorazione delle sezioni, oltre alle sostanze già dette, che utilizzavo anche per le colorazioni in toto, usai a preferenza l'emateina IA di Apáthy, l'ematossilina ferrica sec. Heidenhain, l'ematossilina Delafield, il carminio boracico e il verde di metile in soluzione alcoolica: questi due ultimi coloranti costituiscono una utile colorazione doppia, per lo studio della struttura nucleare.

La estrema piccolezza degli oggetti esige l'uso dei più forti ingrandimenti e quindi di sorgenti luminose artificiali; a tal uopo mi servì mirabilmente la lampada a incandescenza a gas sistema Auer del Leitz, munita di condensatore, che mi permise l'uso degli oculari compensatori più potenti con i sistemi ad immersione del Koristka.

Forma, caratteri esteriori ed abitudini.

Quest'*Anoplophrya* per la forma del corpo si discosta alquanto dalle altre specie del genere. Essa è cilindrica, lievemente ingrossata nella parte anteriore arrotondata, e lievemente assottigliata verso la parte codale; ciò che ne rende caratteristica la forma è il fatto di avere l'estremità posteriore terminata in punta acuta: nelle specie finora note la parte posteriore del corpo, che può essere più o meno assottigliata, si mostra costantemente arrotondata, tanto che lo Scheviakoff nella citata revisione pone tale condizione fra le principali caratteristiche del genere (1896 pag. 380). I giovani esemplari (Tav. V fig. 3) conservando anche essi assai evidente il carattere suddetto, si presentano, sebbene il loro corpo sia tozzo e quasi ovoide, con l'estremo posteriore puntuto, dando così contezza della loro origine per divisione di una piccola porzione dell' estremità posteriore del corpo degli individui adulti (Tav. V fig. 2).

La forma quasi cilindrica di *A. paranaidis* rende poco agevole l'orientazione del suo corpo; tuttavia una lieve curvatura che assume il corpo dell'animale allo stato di riposo lascia arguire, per analogia con altre forme somiglianti, che la parte ventrale corrisponda alla concavità della curva; tale criterio è confermato dalla disposizione delle parti della interna struttura rispetto a tale curvatura, in corri-

spondenza con quanto è noto sull'orientamento di tali parti rispetto alla superficie esterna in altre specie.

Un altro carattere che rende notevole anche ad un esame esteriore l'*A. paranaidis* è la lunghezza delle ciglia che formano il rivestimento uniforme del corpo. In eseplari estratti dal loro ambiente naturale e cocainizzati potetti assodare che le ciglia sono infatti di lunghezza quasi uguale al diametro della sezione trasversa del corpo, val quanto dire che a ciglia distese, se queste vengono comprese nella misura della spessezza del corpo, tale misura viene ad esserne triplicata. I movimenti di progressione dell'animale, quindi, sono prodotti più che dal consueto moto pendolare rapido delle ciglia, da un moto più lento di flessione, in cui ciascun ciglio è quasi paragonabile ad un flagello.

Le strie longitudinali su cui prendono impianto le ciglia sono parallele all'asse del corpo, molto ravvicinate e minutissime; nella intera superficie cilindrica se ne possono contare un numero di novanta a cento. All'estremo anteriore, nell'area con cui l'animale suole aderire all'epitelio intestinale di *Paranais elongata*, le ciglia sono assai più corte ed al polo anteriore, o punto medio di adesione, addirittura nulle, mentre all'estremo posteriore la lunghezza è uguale o poco minore che nelle rimanenti parti del corpo.

Le dimensioni di *A. paranaidis* sono assai minuscole: la sua lunghezza non supera i 150 o 160 μ negli individui meglio sviluppati e prossimi alla divisione; il diametro della sezione del corpo non oltrepassa i 20 μ.

Anoplophrya paranaidis non presenta esteriormente alcuna differenziazione, neppure nella parte anteriore del corpo con cui aderisce talora al suo ospitatore. Spesso in animali distaccati e debitamente colorati mi è occorso di vedere una sostanza di aspetto mucoso raccogliersi a mo' di nuvoletta all'estremo anteriore, ove le ciglia sono più rade ed accorciate, ossia nel punto di adesione; di tale sostanza (Tav. VI fig. 4 *sad*) vi è traccia, come sarà detto in seguito, anche nel plasma interno, ove può essere messa in evidenza con speciali colorazioni; quando l'animale si trova attaccato alle cellule della parete stomacale la porzione del corpo corrispondente al punto di adesione rientra alquanto formando una infossatura (Tav. VI fig. 4 *ifa*).

Le *Anoplophrya*, del resto, non vivono continuamente attacate alle pareti interne dello stomaco, nè si trovano sempre allo stesso punto. Non è raro di vedere per trasparenza alcuni degli individui distaccati muoversi nell'angusto ed affollato spazio che li alberga:

il movimento in tal caso è a preferenza circolare, costituito cioè dal girare continuamente e non molto velocemente intorno ad un punto, ponendo l'estremo anteriore quasi a contatto col posteriore. Non è escluso però anche un movimento in linea retta, nei casi in cui gli animali possono talora allontanarsi anche dallo stomaco per passare nella regione dell'intestino corrispondente al segmento succesivo (9°). Tale movimento è per lo più quello che adotta l'animale quando viene estratto e portato nel liquido ambiente; ivi, nel poco tempo che resta ancora in vita, si muove lentamente in linea retta col non molto rapido agitare delle lunghe ciglia che ne rivestono il corpo.

Le *Anoplophrya* di questa specie vivono nello stomaco di *Paranais elongata* in numero non rilevante di individui (dodici o quattordici fra grandi e piccoli); purtuttavia l'angusto spazio dello stomaco ne resta letteralmente infarcito: quando il numero è più elevato si trova talora qualche individuo anche, come ho accennato, nella porzione dell'intestino corrispondente al segmento successivo; è da supporre che ciò avvenga in seguito al moto ciliare dell'epitelio intestinale, combinato con quello del rivestimento dell'infusorio. La presenza di individui nel detto segmento, però, non è frequente.

È notevole che la porzione dell' intestino in cui vivono questi protozoi corrisponde proprio a quella rivestita da una più ricca rete vasale perienterica, come l'ho descritta (1909) nel mio studio su *Paranais elongata* (Tav. VI fig. 4 *pvs*) e dove, quindi, più attivi sono gli scambii di sostanze nutritive fra le pareti intestinali ed il sistema circolatorio: credo che questo fatto costituisca un buon argomento per ritenere che nel caso da me osservato *Anoplophrya* non si trovi in condizione da ricercare nel suo ospitatore una semplice protezione parassitaria, ma che, stando nel modo da me esposto con la sua infossatusa anteriore aderente alla parete stomacale, ed usufruendo largamente dei prodotti della digestione, sia da ritenersi come un parassita vero e proprio; tanto più che a me non risulta che il parassita possa allontanarsi dal corpo e vivere liberamente, non avendolo io mai trovato fuori del corpo od in via di uscirne; ho potuto anzi più volte sperimentalmente provare che gli infusori tratti dal loro punto di ricovero nel liquido ambiente vivono solo pochi minuti, incominciando subito a presentare evidenti segni di degenerazione, sui quali avrò occasione di dire in seguito.

Cuticola e plasma.

La cuticola che riveste uniformemente il corpo di *Anoplophrya paranaidis* è assai sottile, non raggiungendo 0,4 μ di spessore. Al di sotto della cuticola si nota uno straterello di plasma spesso circa 1,5 μ, assai trasparente, che appare costituito nei tagli trasversi da tante cellette poste in una sola fila l'una a fianco dell' altra al margine delle sezioni. Le cellette sono divise da corpuscoli rotondeggianti, posti immediatamente sotto la cuticola, da ciascuno dei quali si vede partire un ciglio (Tav. VI fig. 1 e 5). Di questi corpuscoli nella intera circonferenza di un taglio trasverso si notano un numero di circa novanta, corrispondente a novanta strie ciliate che costituiscono l'intero rivestimento vibratile del corpo dell' infusorio. La sostanza ectoplasmatica è molto trasparente ed omogenea e poco colorabile, in modo che le cellette nelle preparazioni sembrano vuote, nè mi è riuscito di notare una membrana limitante fra esse ed il sottostante endoplasma.

I corpuscoli basali della ciglia sono alquanto più colorabili del plasma e stanno molto ravvicinati fra loro, nel senso longitudinale, in modo da confondersi ciascuna serie in una delle strie visibili facilmente anche sul vivo; tale serie è omologabile ai mionemi di cui i corpuscoli basali delle ciglia appaiono come ispessimenti; struttura di poco discorde da quella osservata da MAIER in *Opalina* (1903).

Le sezioni longitudinali talora mostrano sul contorno una linea oscura, quando la sezione passa per la stria ciliare (Tav. VI fig. 4 *min*), talora una linea chiara di ectoplasma intorno all' intero taglio (Tav. VI fig. 3 *ecpl*) quando iltaglio passa per l'intervallo fra due strie.

Le strutture sopra accennate, e cioè l'ectoplasma ed i corpuscoli basali delle ciglia, sono assai meno evidenti che per tutto il resto del corpo nella parte apicale anteriore dell' infusorio, quella parte cioè che si mostra infossata quando questo aderisce al suo ospitatore, e che quando è distesa appare provvista di poche e lievi ciglia. Ivi l'ectoplasma difficilmente è distinguibile dall' endoplasma, trovandosi questo quasi a contatto con la cuticola.

L'endoplasma ha una struttura notevolmente omogenea, costituita da sottilissimi filamenti lascamente raccolti, formanti maglie e, qua e là, minutissimi granuli; fra le maglie trovasi una sostanza liquida trasparente; la sua scarsa colorabilità fa sembrare l'endoplasma quasi privo di qualsiasi struttura nei preparati che non hanno assunto intense colorazioni; esso si mostra talora lievemente più denso in

prossimità dell' area chiara che circonda il macronucleo. Una maggiore colorabilità e densità mostra di solito l'endoplasma verso l'estremo anteriore dell' infusorio (Tav. VI fig. 3 e 4) ove trovasi una sostanza più affine coi coloranti, la quale è certamente da interpretarsi come una secrezione adesiva, essendo quella stessa di cui, come fu detto innanzi, una porzione si trova anche all' esterno, in corrispondenza del punto di contatto con l'ospitatore.

L'ectoplasma si separa dall' endoplasma alcun tempo dopo che l'animale vivente è stato estratto dallo stomaco del suo ospitatore e portato nel liquido ambiente. Allora si vedono aumentare enormemente di dimensioni le cellette ectoplasmiche, e poi l'endoplasma distaccarsi ed allontanarsi gradualmente dalla cuticola, addensandosi sempre più nella parte assile della cellula, intorno al macronucleo (Tav. V fig. 5). Tale degenerazione è dovuta certamente alla brusca variazione di densità del liquido ambiente, per cui forti correnti di acqua si precipitano per osmosi entro l'ectoplasma attra- versando la cuticola; a questo fenomeno segue, poco dopo, la morte dell' infusorio.

L'endoplasma che, come ho detto, è quasi omogeneo, non mostra inclusi di sorta; solo sul vivo sono da notare numerose minutissime gallozzole di sostanza più rinfrangente del plasma che le contiene, occupanti la parte dell' endoplasma più prossima all' asse; di queste formazioni però non si trova più traccia nè nei tagli nè negli animali fissati e colorati in toto; sono forse da interpretare come goccioline di sostanze grasse, costituenti depositi di sostanze le quali, uniformemente distribuite nell' endoplasma, vengono assimilate da esso a scopo di nutrimento.

Vacuole.

Le vacuole in questa specie di *Anoplophrya* non sono molto numerose e si trovano da un sol lato del nucleo. La loro presenza non può dirsi costante, perchè non di rado si trovano esemplari che ne sono completamente sprovvisti, specialmente fra quelli che hanno minori dimensioni. Data la estrema piccolezza non è possibile uno studio molto accurato di questi delicatissimi organi, che mal resistono alle manipolazioni della tecnica microscopica; lo sludio più proficuo quindi è quello che può farsi sul vivo. Le vacuole appaiono come piccole sfere immobili, lievemente più chiare e trasparenti del plasma

circostante; quantunque io abbia avuto occasione di osservarne spesso taluna per un tempo assai lungo, non mi è mai occorso di notare delle variazioni nel diametro di ciascuna di esse; non posso quindi assolutamente affermare che siano dotate di movimenti di pulsazione; il loro contenuto, come ebbero ad osservare LÉGER e DUBOSQ (1904) facilmente assume i coloranti diffusi nel liquido ambiente.

Spinto dalle osservazioni di AWERINZEW (1908) il quale scoperse recentemente in *Bütschliella* una apertura di comunicazione con l'esterno in vacuole assai somiglianti a quelle di *Anoplophrya*, e da alcune figure di RAY LANKESTER (1870) il quale, riproducendo l'aspetto di un esemplare degenerato di *Opalina naidos* (= *Anoplophrya naidos*) pone le vacuole a contatto e sboccanti nella cuticola, volli tentare di assodare se anche in questa *Anoplophrya* le cose stessero nella medesima maniera; ma per quanto avessi cercato negli animali viventi e nei tagli, non riuscii a scovrir traccia di tali comunicazioni; gli animali in via di degenerazione perchè trasportati fuori del loro ambiente naturale mostravano, è vero, molto ingrandite le vacuole, come osservò il RAY LANKESTER in detto opalinide e più recentemente anche LÉGER e DUBOSQ in *A. Brasilii*, ma non restavano aderenti alla cuticola; esse subivano la sorte dell' endoplasma, di accostarsi cioè all' asse dell' infusorio allontanandosi da essa (Tav. V fig. 5 *vac*). Io non credo quindi che queste vacuole abbiano, nel mio caso, una comunicazione diretta con l'esterno, ma che, piuttosto, siano in rapporto con la porzione centrale del plasma, con cui si mantengono a contatto anche durante le fasi degenerative. Le osservasioni di METCALF (1907) sul sistema escretore di *Hoplitophrya*, olotrico opalinide, endoparassito anche quello, hanno del resto resa verosimile la esistenza di intime relazioni fra in macronucleo e l'apparato escretore.

Come ho accennato, le vacuole di solito restano obliterate coi metodi fissativi e conservativi, però una di esse spesso mi è riuscito di rintracciarla nei tagli, e propriamente quella di presenza quasi costante sul vivo, che si trova verso la parte estrema del corpo, compresa fra l'estremità posteriore del macronucleo e la parete del corpo, il quale in quel punto si va restringendo. Sui tagli le vacuole non appaiono se non come aree circolari in cui la sostanza protoplasmatica sembra del tutto assente; nessuna linea delimita tale area, che possa dimostrare traccia di una parete, nè alcuna modificazione del plasma circostante (Tav. VI fig. 3 *vac*). Se queste vacuole sono da omologare alle vacuole pulsanti degli altri protozoi, bisogna concludere che negli infusorii parassiti hanno subito una

grande riduzione, così morfologica che funzionale, e tanto maggiore in queste *Anoplophrya* per la loro estrema piccolezza. *Bütschliella* infatti nelle cui vacuole Awerinzew descrive le accennate aperture all' esterno, pur essendo parassita potè essere dall' autore annoverata (1908 pag. 335) fra le più grandi forme di infusorii.

Macronucleo.

Lo studio anatomico degli infusorii ha un particolare interesse per la risoluzione delle varie quistioni che in questi ultimi anni si sono andate ponendo sul valore funzionale e morfologico del duplice corpo cromatico di questi protozoi, in rapporto con le moderne teorie sulla binuclearità cellulare dovute specialmente agli studi di Schaudinn, Goldschmidt, Prowazek, Hertwig ed altri, e sul valore delle altre formazioni cromatiche diffuse (cromidii, ergastoplasma delle cellule secernenti) e concentrate (nuclei accessori, corpi vitellini ecc.) che or l'uno or l'altro autore ha voluto omologare alle varie parti della interna organizzazione cellulare dei ciliati. Per tale ragione io ho creduto utile di trarre dati sicuri, mediante speciali colorazioni, sulla morfologia e la struttura del macronucleo, per cercare di dedurre fondate conclusioni sull' ufficio di questo organo nella economia della cellula autonoma che costituisce il corpo del protozoo. È inoltre da notare che il macronucleo degli *Anoplophryinae* per il suo modo peculiare di presentarsi, come un cilindro assile longitudinale nel corpo allungato dell' infusorio, ha uno speciale interesse e porge con la sua estensione, notevolissima rispetto al corpo cellulare, un campo assai favorevole per le osservazioni e per le corrispondenti interpretazioni.

Prima di passare al risultato delle mie osservazioni esporrò brevemente quel tanto che è noto sulla struttura del macronucleo degli *Anoplophryinae*, rilevandolo dalle brevi notizie che qua e là si rinvengono nella bibliografia. Malgrado che la conoscenza di questi infusorii olorichi rimonti a molti anni or sono, per essere stati da prima messi in evidenza da Dujardin, Stein, Schultze, Claparède ecc., pure questi autori, se si accorsero della presenza di questo importante organo, si limitarono a descriverne la forma. Ray Lankester (1870) nota in *A. naidos* la presenza di corpuscoli rotondi nella sostanza nucleare, ma i primi dati anatomici ce li porge nel 1885

il BALBIANI il quale, studiando *Anoplophrya circulaus* BALBIANI, (= *A. branchiarum* STEIN) nota che il nucleo cilindrico è più spesso rettilineo, ma talora ondulato in animali in via di accrescimento; riguardo alla struttura il BALBIANI osserva che il detto nucleo si compone di una sostanza finemente granulosa, come quella che costituisce il nucleo della maggior parte degli infusorii, e presenta anche, talora, una striatura longitudinale finissima, per cui appare come un fascio di fibrille; le due maniere di presentarsi sarebbero indipendenti dallo stato di attività riproduttiva in cui può trovarsi l'individuo.

Poco dopo la comparsa del lavoro del BALBIANI su *A. circulans*, Aimé SCHNEIDER (1886) pubblicava un lavoro sullo stesso soggetto, in cui, fra l'altro, cercava di dare un maggiore sviluppo alle conoscenze riguardanti il macronucleo, specialmente in rapporto coi fenomeni riproduttivi; ma in verità ben poco egli disse sulla struttura del macronucleo, quantunque tacciasse il lavoro del BALBIANI con lo appellativo di „insuffisant sur ce chapitre": secondo lo SCHNEIDER il nucleo è ovale quando l'induviduo non si prepara alla riproduzione, e la sua struttura mostra dei grossi cromatosferiti, mentre quando si prepara a dividersi si allunga e i cromatosferiti si dividono in modo che il nucleo diviene fibrillare e la massa cromatofila si trova grandemente aumentata. Null' altro di concreto risulta dal lavoro di SCHNEIDER sulla struttura del macronucleo; e il poco che l'A. dice, come si vedrà in seguito, non può trovare conferma in osservazioni fatte su altre specie.

LÉGER e DUBOSQ (1904) descrissero in *Anoplophrya Brasilii*, olotrico della famiglia degli *Anoplophryinae* per molti riguardi somigliante alla specie che è oggetto del presente lavoro, un macronucleo lungo assile, ottuso all' estremo posteriore ed affilato all' estremo anteriore, dalla cui sezione si rileva che è in forma di doccia, con parete poco spessa, avente la superficie esterna (convessa) irregolare, verrucosa e mammellonata: il macronucleo si compone di una cromatina a reticolo grossolano e molto denso.

FAURÉ-FREMIET (1907) ha descritto in *Anoplophrya striata* DUJARDIN un macronucleo costituito da sottili granulazioni cromatiche e con nucleoli, ma senza membrana.

AWERINZEW assai recentemente (1908) si è occupato di un iufusorio su cui egli ha istituito il nuovo genere *Bütschliella*, ma che, senza dubbio, è assai prossimo alle *Anoplophrya*; il macronucleo, anche qui assile ed in forma di nastro, possiede un involucro non spesso e poco colorabile coi colori nucleari, ritenuto dall' A. una

formazione protoplasmatica; la parte interna (il vero macronucleo) possiede una struttura finamente alveolare e nel suo interno mostra un numero alquanto considerevole di nucleoli di varia grandezza, i quali non mostrano alcuna struttura interna; di essi i più grandi sono contenuti in vacuole ripiene di liquido. Nella divisione del nucleo i nucleoli scompaiono e questo assume un aspetto fibrillare: molti nucleoli vengono emessi dal nucleo per mischiarsi al plasma circostante.

Degna in fine di nota, quantunque neanche qui si tratti di *Anoplophrya* sensu stricto, è la forma del macronucleo in *Rhizocaryum concavum*, descritto anche di recente (1907) da Caullery e Mesnil; gli autori paragonano questo macronucleo per la sua forma ad una „large feuille profondément et irrégulièrement dechiquétée ou encore à une racine avec des nombreuses radicelles" come i pseudopodi di un rizopodo; la parte anteriore del nucleo appare dalle figure alquanto ingrossata.

Come si vede, riguardo alla struttura del macronucleo degli *Anophlopryinae* non regna il massimo accordo di vedute in quel pochissimo che se ne sa, disaccordo che traspare anche dalle osservazioni di Balbiani, e Schneider, i quali lavorarono nella medesima specie, tratta, per giunta, dal medesimo ambiente (ospitatore e località). Io ritengo che gran parte del disaccordo, specialmente nel caso della stessa specie, sia da riferirsi ai metodi differenti usati nello studio del macronucleo dai differenti autori, e ciò ho potuto provare col fatto che io stesso coi diversi metodi di colorazione avrei ottenuto talora risultati fra loro del tutto contradditorii se avessi costantemente accettato come moneta contante tutto quello che risultava dalle colorazioni, senza sceverare quello che è costante ed accettabile da quello che può essere il portato di una sola e differente reazione, di un imperfetto metodo di fissazione o di cattiva conservazione degli esemplari. Debbo d'altra parte notare che quanto è risultato dalle mie osservazioni, differendo in molti punti da quanto fu trovato da altri autori, deve essere ritenuto come ciò che si osserva in *A. paranaidis*, e che non è mia intenzione di generalizzare, essendo ammissibile che le specie diverse, come differiscono per le altre strutture (ciglia, mionemi ecto- ed endoplasma), possano differire anche per l'organizzazione del macronucleo.

Il macronucleo di *A. paranaidis* ha forma allungatissima, cilindrica, talora si presenta, come il corpo cellulare, lievemente depresso, in modo che la sezione ne risulta ellittica (Tav. VI fig. 5 *Mn*) col maggior diametro in senso laterale. Negli animali viventi special-

mente è facile il notare che l'estremità anteriore del macronucleo, la quale giunge fin quasi all' estremo anteriore del corpo, si presenta un poco ingrossata ed arrotondata, tendendo perciò alla forma clavata (Tav. V fig. 1 a, 5 *Mn*). L' estremità posteriore si presenta anch' essa arrotondata e si arresta poco prima dell' estremità appuntita del corpo

Il macronucleo di solito è diritto e poco ricurvo, ma non di rado appare alquanto ondulato e ripiegato su sè stesso (Tav. VI fig. 3, 12, 13 *Mn*); in generale io non ho potuto notare un rapporto netto fra il periodo di accrescimento del corpo e tale carattere, che anzi a me pare il nucleo in forma di nastro ondulato sia frequente specialmente negli animali meglio sviluppati, e che il carattere sia piuttosto dipendente da speciali atteggiamenti che esso prende in determinati momenti, anzicchè essere in relazione con le diverse fasi dello sviluppo dell' individuo. E tale veduta è confermata dal fatto che talora tutti gl' individui ospitati da un solo animale mostrano il carattere della forma ondulata del nucleo, talaltra nessuno, la qual cosa mette fuor di dubbio che il macronucleo deve contrarsi e divenire ondulato in rapporto con speciali condizioni dell' ambiente comune a tutti gli individui, forse non indipendenti dal metodo di uccisione e dalla più o meno intensa azione della cocaina usata per immobilizzare l'oligocheto ospitatore quando le manipolazioni vengono fatte osservando gli infusorii in situ.

Il macronucleo si mostra riguardo alla sua forma ed alle sue dimensioni alquanto differente a seconda che viene esservato a fresco o su preparati, sia di sezioni che in toto; ciò dipende dal fatto che esso è circondato da una sorta di involucro plasmatico che è poco colorabile, assumendo le colorazioni poco diversamente dall' endoplasma in cui trovasi compreso; viceversa a fresco questo involucro trasparente, come il plasma e come la parte cromatica, ha un indice di rifrazione differente da quello dell' endoplasma ed uguale a quello della parte assiale e della sostanza cromatica; è per questa ragione che a fresco e per trasparenza si distingue dall' endoplasma e sembra formare un tutto col nucleo, mentre nei tagli e sui preparati colorati si distingue dalla parte assile del nucleo e sembra formare un tutto con l'endoplasma. Tuttavia osservato a forte ingrandimento si vede che questo involucro ha una struttura ancor meno evidente di quella del plasma, apparendo come un campo più chiaro e trasparente intorno all' asse nucleare ricco di cromatina. Sarebbe difficile determinare se questo involucro fa parte del macronucleo o dell' endoplasma; è certo che esso è compreso nella porzione della cellula descritta come macronucleo da tutti coloro, e sono i

più, che lavorarono su questi protozoi servendosi del solo mezzo della osservazione a fresco. Esso corrisponde certamente anche alla „mit Kernfarben schlecht färbbare Hülle“ che Awerinzew ha osservato in *Bütschliella* e che egli ritiene come formazione protoplasmatica. È inoltre notevole che a questo rivestimento nucleare è dovuta in *A. paranaidis* la forma clavata del nucleo, essendo tale rivestimento più spesso nella parte anteriore, mentre il cilindro cromatico assile del macronucleo è pressocchè uguale di spessore alle due estremità (Tav. VI fig. 2 *ia*).

Ma la porzione essenziale del macronucleo consiste certamente nell'asse centrale che assume intensamente le colorazioni, e che si mette subito in evidenza tenendo anche per brevissimo tempo (pochi secondi) gli esemplari fissati in una sostanza colorante assai diluita nel suo solvente. La colorazione che assume in tal caso il macronucleo, se non è troppo intensa, mette subito in evidenza come esso non sia costituito da una sostanza emogenea, ma da un insieme di sostanze differenti, di cui i coloranti mettono in certa evidenza due, l'una raccolta in sottilissimi granuli e molto affine con quasi tutti i coloranti (emateina, ematossilina, emallume, carminio) l'altra apparentemente senza struttura, eguale in tutti i punti, e costituente quasi una massa di sostegno pei granuli intensamente cromatici; questa sostanza assume pur essa le colorazioni nucleari, ma assai meno intensamente della sostanza granulare, sì che può essere messa in evidenza soltanto regolando le colorazioni in modo che esse agiscano lentamente, con coloranti cioè molto diluiti, ed adoperati per breve tempo.

La distribuzione della parte granulare nel macronucleo non è sempre uniforme in tutta la distesa di esso, ma varia molto nei differenti individui, e senza dubbio è in rapporto col periodo di vita in cui l'individuo si trova e con lo stato di accrescimento. Fra i soli individui albergati in uno stesso ospitatore di solito è già possibile di distinguere una gradazione di forme, attraverso le quali è facile ricostruire il graduale accrescersi della quantità di sostanza granulare e il vario distribuirsi nelle varie zone del macronucleo (cfr. le figure che compongono la fig. 2 della Tav. VI). In individui piccoli, appena distaccatisi per scissione dall'estremo di un altro, il nucleo conserva i caratteri di una porzione del macronucleo dell'individuo genitore (come l'individuo c. della fig. 3 Tav. V): è quindi grosso, di forma ovoide ed alquanto denso di sostanza cromatica (Tav. VI fig. 2 a.); ma in individui alquanto allungatisi per accrescimento si vede come il macronucleo si sia anch'esso allungato, e la

parte cromatica granulare sia diffusa entro l'intera distesa uniformemente (b.), come uniformemente diffusa si rinviene anche in individui di media grandezza, nei quali, per altro, il materiale cromatico e la sostanza meno colorabile in cui i granuli sono sparsi si trovano notevolmente accresciuti e densificati (Fig. cit. c. d.). In individui più grandi si nota una graduale disposizione di detto materiale cromatico granulare, che tende a raccogliersi ed addensarsi in una serie di gruppi disposti serialmente lungo l'asse nucleare; gruppi che dapprima appena accennati (e.), si rendono sempre più evidenti (f. g.) oltre che per la densità della sostanza cromatica granulare anche perchè l'altra sostanza tende a ridursi nei punti limiti fra gli addensamenti seriali, in modo che la parte colorabile del macronucleo in questo stato fa acquistare al nucleo stesso un aspetto moniliforme. Il maggior numero degli individui bene sviluppati presenta il macronucleo nelle condizioni rappresentate nelle figure c. d. e. (Tav. VI fig. 2). È da ritenersi che l'aspetto segnato in e. f. g. sia in rapporto col periodo di divisione del corpo, poichè sono appunto gli animali che hanno il massimo sviluppo in lunghezza che presentano più evidente la conformazione moniliforme dell' asse macronucleare. In questa forma è più evidente la distinzione fra le due sostanze del nucleo, poichè mentre quella più intensamente colorabile si raccoglie a preferenza in corrispondenza dei punti ingrossati, l'altra, quella omogenea e meno affine coi coloranti, è visibile ai punti ove fra due ingrossamenti l'asse nucleare è più assottigliato o quasi strozzato. Un altro fatto degno di nota è che la struttura granulare del materiale cromatico del macronucleo quando questo si appresta alla divisione è meno evidente; non di rado ho potuto osservare nei tagli che le porzioni più colorabili del nucleo si mostravano distinte da quelle meno colorabili solo per la intensità del colore assunto (Tav. VI fig. 3, 13 *Mn*) mentre dei granuli vi restava poca o nessuna traccia. In tale condizione, o quasi, si trovano i nuclei delle fig. 12—14 della Tav. VI in cui sono riprodotti dei preparati con doppia colorazione con carminio boracico e metil verde. Qui la parte assile ha assunto più intensamente la colorazione verde, mentre la più superficiale ha preso a preferenza il colorante rosso: ho ragione di ritenere, anche per quanto dirò più tardi sulla colorazione del micronucleo, che alla porzione superficiale più colorata col carminio corrisponde quella che si colora meno intensamente con i coloranti nucleari e, viceversa, a quella assile colorata in verde corrisponde quella che assume più intensamente i coloranti nucleari (emateina, ematossilina, emallume) e che si nota intensamente colorata nelle altre figure della Tav. VI.

Accertata la esistenza dei due accennati componenti del macronucleo, le mie osservazioni sono state dirette a risolvere la questione della esistenza o meno di una membrana nucleare. Di tale formazione parla il SIEDLECKI (1908) a proposito di *Herpetophrya astoma*, il cui genere è molto affine al genere *Anoplophrya*, ma non ne è parola negli altri autori, salvo FAURÉ-FREMIET che ne nega la esistenza in *A. striata* (1907); a mio avviso, a meno che non si consideri come membrana l'involucro poco colorabile del nucleo, una vera formazione paragonabile ad una membrana nucleare non esiste nel macronucleo di *Anoplophrya paranaidis;* questo appare, comunque colorato, come un tutto mantenuto in situ e conformato dalla uniforme consistenza della sostanza diffusa; non potei mettere in evidenza nessuna formazione superficiale di consistenza maggiore, la quale reagisca in modo speciale con le sostanze coloranti; con la doppia colorazione al carminio boracico e verde di metile (fig. 12—14 Tav. VI) si nota talora un contorno rosso nelle sezioni, ma con un accurato studio di esse a forte ingrandimento ho potuto assodare che non si tratta di una vera membrana; tale contorno del resto non appare per tutta la estensione del macronucleo, e va interpretato come un fenomeno di rifrangenza della sostanza che compone il nucleo, più densa dello involucro nucleare e del plasma circostante.

D'altra parte l'assenza di una membrana nucleare è anche di accordo con altre maniere di presentarsi che ho potuto notare in molti esemplari mediante la colorazione del macronucleo con l'ematossilina ferrica e l'emateina. Di questo colorante mi servii insieme con l'orange G, ma per riguando all' anatomia del Protozoo l'orange non fu assunto da nessuna parte, l'emateina invece colorò più intensamente l'asse centrale del nucleo (come l'ematossilina ferrica Tav. VI fig. 8—11) senza però mettere in grande evidenza i granuli. La sostanza meno colorabile del macronucleo risultò più chiara, e potetti notare come in molti punti questa emettesse dei prolungamenti verso l'endoplasma, che andavano rendendosi sempre più tenui col ramificarsi entro di esso. Per tali prolungamenti il macronucleo appariva in molti punti provvisto di specie di pseudopodii che, sporgendo dalla superficie in vario senso, davano alla sezione del macronucleo configurazioni differenti (fig. 9—11). Tali prolungamenti sono più abbondanti negli individui meglio sviluppati. La loro presenza ha una notevole importanza per le possibili considerazioni a cui possono dare luogo, specialmente a proposito dei rapporti fra macronucleo e plasma, e per una possibile interpretazione della funzione e del significato del macronucleo dei ciliati, su cui si è tanto studiato

in questi ultimi anni. Cade qui opportuno di ricordare l'osservazione di CAULLERY e MESNIL (1907) in *Rhizocaryum*, di un macronucleo provvisto di processi radiciformi assai evidenti; disgraziatamente la brevissima descrizione di questi autori nulla dice della struttura intima del nucleo; non è quindi possibile di paragonare esattamente i due casi, per vedere se in quel così evidente ramificarsi del nucleo assile prenda parte oppur no anche la sostanza cromatica del macronucleo.

Riepilogando, dalle osservazioni finora esposte a me pare risulti evidente che:

1° — Il macronucleo di *Anoplophrya paranaidis* è composto, nella sua parte essenziale, da due sostanze ben distinte, di cui l'una, più colorabile, è raccolta in granuli più o meno minuti e disposta a preferenza nella parte assile, l'altra meno colorabile e piuttosto omogenea ne forma quasi il sostegno ed è meglio visibile alla periferia e dove l'altra è meno addensata.

2° — Il macronucleo non ha una membrana limitante che ne determini la forma, questa non può dirsi quindi del tutto definita, essendo possibile di mettere in evidenza delle sorta di prolungamenti protraentisi nel plasma circostante, fatti a preferenza della sostanza meno colorabile del macronucleo.

In tali condizioni il macronucleo di questa specie sarebbe paragonabile per la struttura granulare a quello di *A. branchiarum* studiata da BALBIANI e A. SCHNEIDER ed a quello di *Herpetophrya* giusta le osservazioni di SIEDLECKI, salvo che i primi due autori non parlano di un' altra sostanza, oltre quella granulare, ed il terzo parla di una membrana limitante; la sostanza granulare risulta presente anche nelle figure e nelle brevi descrisioni di AWERINZEW per *Bütschliella* e di SIEDLECKI per *Herpetophrya*, nessuno di questi autori però ha osservato le ramificazioni laterali che vengono descritte in *Rhizocharyum* da CAULLERY e MESNIL, i quali autori, peraltro, non danno alcuna notizia sulla più intima struttura dell' importante organo. La conformazione fibrillare della sostanza cromatica di cui parlano BALBIANI, A. SCHNEIDER ed AWERINZEW in alcuni stadi dell'attività riproduttiva non fu da me mai riscontrata nella mia specie quantunque avessi avuto sovente occasione di osservare individui in via di dividersi.

Ma uscendo dal campo degli Infusorii, il macronucleo di *Anoplophrya* può, nelle condizioni da me descritte, essere paragonato alla forma di nucleo dei protozoi che è nota col nome di cariosoma, inteso non come una semplice massa omogenea e solida di sostanza

cromatica, ma come composta di due sostanze ben distinte, l'una paragonabile alla cromatina, l'altra alla plastina del nucleo dei metazoi; tali sostanze sono disposte nella maniera come furono osservate nel nucleo dei coccidii da Schneider (1883), Labbée (1896), Siedlecki (1898) ed Hertwig (1898), una, la meno colorabile, più all' esterno, e l'altra, la granulare più intensamente colorabile, più all' interno: le osservazioni da me compiute troverebbero riscontro anche in quanto Hertwig (1902) e Schaudinn (1902) opinarono per il nucleo dei coccidii, che, cioè, la sostanza che trovasi insieme con la cromatina formi un mezzo di unione pei granuli più colorabili: salvo che sarebbe difficile di poter affermare se nel caso del macronucleo di *Anoplophrya* realmente, come vogliono questi autori per il nucleo dei coccidii, il materiale meno colorabile costituisca la sostanza da cui la cromatina stessa si origina.

Ma allo stato delle conoscenze i confronti possono avere un valore puramente descrittivo quando noi usciamo dal campo dei ciliati, non essendo possibile di paragonare funzionalmente e morfologicamente il macronucleo dei ciliati col nucleo degli altri protozoi, senza tema di avere da fare con organi di valore del tutto differente nella economia dell' organismo unicellulare; specialmente poi quando il paragone è fatto con gli sporozoi, in cui le modernissime osservazioni di Siedlecki, Schaudinn, Cecconi, Dobell, Comes, Awerinzew ed altri hanno riconosciuto formazioni cromidiali sulla cui interpretazione molto si è discusso e molto vi è ancora da discutere e da osservare: è palese infatti il disaccordo che regna fra chi vuol vedere in esse la parte generativa del nucleo, ravvicinandole così al micronucleo degli infusorii (Schaudinn 1903), mentre altri le paragona alla porzione vegetativa, ravvicinandole ai cariosomi, i quali a loro volta corrisponderebbero al macronucleo giusta l'opinione del Siedlecki (1905). Quest' ultimo autore ammette anche che i cromidii possano avere un diverso significato nei diversi gruppi in cui furono rinvenuti. In tale disaccordo sarebbe in vero pericoloso stabilire confronti: è certo tuttavia che in *Anoplophrya* un apparato cromidiale non esiste; il macronucleo in *A. paranaidis* con i suoi processi ramificati ha una forma che è da ritenere come l'esponente di rapporti funzionali molto attivi fra macronucleo e plasma, e che tanto in senso morfologico che funzionale potrebbe essere considerata come prima forma di passaggio dalla compatta alla diffusa; forma la quale troverebbe poi graduale svolgimento

[1]) v. a. tal proposito Calkins 1903.

nella forma riscontrata da CAULLERY e MESNIL in *Rhizocaryum* con una ramificazione ancora più accentuata, in *Föttingeria* con la forma reticolata osservata dagli stessi autori (1903), e infine in *Cromidina* ed *Opalinopsis* in cui più recentemente DOBELL (1909) ha dimostrato l'apparato nucleare essere costituito da una delicata rete di granuli di cromatina contenuti in una matrice di un' altra sostanza (plastina) estesa in tutta la cellula; quantunque quest' ultimo autore non veda, come fa il GONDER (1905) in questo apparato nucleare (che egli interpreta come rappresentante il macronucleo degli infusorii) una corrispondenza con la rete cromidiale dei Talamofori, Coccidii, Gregarine ecc. D'altra parte esempii di macronuclei diffusi nel plasma non mancano anche in altri ciliati parassiti e non parassiti; basta ricordare oltre alla notissima *Opalina* i generi *Epiclinites*, *Trachelocerca*, *Uroleptus*, *Holosticha*, giusta gli studii del GRUBER (1884, 1887).

Le conclusioni di DOBELL (1909) hanno per le mie osservazioni maggiore importanza, in quanto riscontrano anche nella forma nucleare diffusa la esistenza delle due sostanze diverse per diverso grado di colorabilità, di cui la meno colorabile (plastina) manda in *Anoplophrya paranaidis* i suoi prolungamenti nel plasma, come in *Cromidina* e *Opalinopsis* la plastina si diffonde in forma di rete nel plasma medesimo.

Una osservazione infine resta a farsi su quanto fu da me e da altri osservato, per potere concludere sulla possibile significazione e sulla funzionalità del macronucleo. Il macronucleo diffuso, in qualsiasi forma, ed il macronucleo a forma cilindrica degli *Anoplophryinae* in genere sono senza dubbio quelli che assumono le maggiori proporzioni, sia in massa sia in superficie: ma tali forme sono più frequenti nei ciliati parassiti. Io credo quindi di poter riscontrare nel maggiore sviluppo di quest' organo una di quelle tante accentuazioni organiche che sono anche nei metazoi endoparassiti prodotte dalle speciali condizioni di vita in cui i parassiti stessi si trovano (ambiente limitato, poca mobilità, nutrizione cutanea ecc.); nel nostro caso infatti è da ricordare che tutte queste forme di ciliati a macronucleo per forma e per diffusione più vistoso sono prive di citostoma (*Astomia*) e perciò assumono il nutrimento per tutta la superficie del corpo; non vi è quindi, dal punto di vista della funzionalità nutritiva, alcuna parte specializzata sia per la immissione, sia per la elaborazione dell' alimento (non citostoma, non citopigo, non vacuola alimentare): è quindi verosimile che la forma più diffusa ed estesa del macronucleo sia in rapporto con la più diffusa ed estesa attività nutritiva; troverebbe quindi a mio avviso un pieno

appoggio nella organizzazione di questi infusori l'ipotesi di una funzione nutritiva del macronucleo, e più che altrove in *Anoplophrya paranaidis*, che mostra con la cospicua estensione del macronucleo, e più ancora con le ramificazioni di esso una nuova conferma dei supposti scambii fra plasma e macronucleo per la detta attività nutritiva della cellula. Tale interpretazione del macronucleo si avvicinerebbe a quella a cui giunsero per altra via Russo e di Mauro (1905), osservando in *Cryptochilum echini* una frammentazione del macronucleo indipendente dalla scissione dell' Infusorio, frammentazione che essi interpretano come un fenomeno nutritivo e che porta alla formazione di più macronuclei dall' unico che si trova normalmente nella specie. È inutile notare come il fatto che avviene solo temporaneamente in *Cryptochilum*, che è forma anch' essa parassita, sia in fondo lo stesso che è permanente nei ciliati sopra accennati a macronucleo diffuso e che si va solo accennando negli *Anoplophryinae* provvisti di ramificazioni macronucleari. Riguardo alla possibile funzione del macronucleo è ancora da ricordare la interessante osservazione fatta su *Hoplitophrya* (anche questo un olotrico assai prossimo ad *Anoplophrya*) da Metcalf, il quale scoperse recentemente (1907) che l'apparecchio escretore, che ha in questo infusorio aspetto vacuolare allungato, presenta un ramo che si va a mettere a contatto col macronucleo stesso: disposizione questa che contribuisce certamente a confermare la importanza che ha il macronucleo nelle funzioni della vita vegetativa dell' infusorio.

Concludendo, io credo di potere con ogni probabilità di dir cosa vera affermare che i ciliati astomii endoparassiti, che assumono il nutrimento attraverso l'intera superficie del corpo ed egualmente in tutti i punti di esso, con la loro forma di macronucleo frammentato, ramificato, ed in qualsiasi modo esteso entro la intera cellula, porgono valido appoggio alla ipotesi che il macronucleo prenda valida parte alla attività nutritiva della cellula.

Micronucleo.

Scarse notizie si hanno sulla costituzione del micronucleo degli *Anoplophryinae*, e solo in poche specie ne fu segnalata la presenza: nelle specie, cioè, che raggiungono maggiori dimensioni a completo sviluppo. Infatti il primo a darne una descrizione fu Aimé Schneider,

il quale, lavorando sulla più grossa specie, l'*A. branchiarum*, potè osservare la forma, la posizione e la maniera di comportarsi del micronucleo nella divisione dell'infusorio. LÉGER e DUBOSQ (1904) hanno descritto il micronucleo die *Anoplophrya Brasilii* come un corpo fusiforme di struttura fibrillare posto a destra e nella metà posteriore del corpo dell'infusorio; essi parlano di micronucleo evidentissimo, ma è da notare che la detta *A. Brasilii* è una forma che può dirsi gigantesca reggiungendo circa un mezzo millimetro negli esemplari in via di riprodursi. Il micronucleo è stato visto ancora da CÉPÈDE (1907) in *A. alluri*, da CAULLERY e MESNIL (1907) in *Rhizocaryum* e da AWERINZEW (1908) in *Bütschliella;* quest' ultimo autore ne ha potuto seguire anche le fasi di divisione nella scissiparità dell' infusorio.

Il micronucleo di *Anoplophrya paranaidis* costituisce una struttura estremamente minuta, è quindi assai difficile il metterlo in evidenza, tanto più che la sua colorabilità è alquanto scarsa, assumendo esso le colorazioni in maniera assai meno intensa che il macronucleo: fu già da altri osservato che la colorabilità del micronucleo è in rapporto con l'attività riproduttiva dell' infusorio; ciò potei constatare anche io, giacchè, malgrado la sua estrema piccolezza, potei ricostruire le fasi di divisione assai meglio che non mi riuscisse di studiare il micronucleo allo stato di riposo. In tale stato esso è un corpicciuolo di forma ovoide misurante non oltre 1 μ di maggior diametro (Tav. VI fig. 5. 9 *mn*) posto verso la metà della lunghezza della cellula nell' endoplasma. La posizione descritta da CÉPÈDE (1907) in *A. alluri* alla superficie dell' endoplasma non è confermata nella mia specie: io rinvenni il micronucleo poco discosto dal macronucleo, ma evidentemente separato da esso. Il micronucleo si colora in violaceo chiaro con l'emallume e l'ematossilina DELAFIELD, in azzurro con l'emateina, in grigio con ematossilina ferrica sec. HEIDENHAIN ed in verde col metil verde; assume debolmente i coloranti di carminio, tanto che non è possibile metterlo con essi in evidenza. Intorno al micronucleo è costantemente visibile nei tagli una piccola areola bianca trasparente, e più rifrangente del plasma circostante, che certamente non è una vacuola, ma uno strato o rivestimento di una sostanza acromatica. Per la suaccennata estrema piccolezza del micronucleo non mi è riuscito di vederne con chiarezza la interna sua struttura, neppure servendomi dei più forti ingrandimenti e di potenti sorgenti di luce artificiale: ho potuto invece seguirne le fasi di divisione in alcuni esemplari, e vedere che in tale processo esso si sposta alquanto verso l'estremità posteriore, allunga prima la sua forma, si strozza

indi nella parte mediana continuando ad allungarsi tanto da determinarsi fra le sue due metà un sottile filamento, in corrispondenza del punto ove la cellula all' esterno si va strozzando per distaccare la sua porzione estrema. A completa divisione il micronucleo presenta ancora in ciascuna delle sue due porzioni una parte del filamento, la quale viene poi riassorbita dai micronuclei figli; queste varie fasi, che in fondo differiscono poco dalle fasi di divisione del micronucleo che si rinvengono in altri infusorii, furono da me disegnate nella piccol aserie di figure contenute nella figura 6 della Tav. VI.

Considerazioni sistematiche.

Del genere *Anoplophrya*, fondato dallo Stein nel 1860, si trovano diagnosi nei lavori monografici di Kent (1880—1882), Bütschli (1887—1889) e, più recentemente, nel 1896, esso fu riveduto dallo Schewiakoff nel lavoro monografico sugli Aspirotrichi. Questi autori si limitarono a riassumere i caratteri del genere, ma mentre il Kent registra ben 15 specie, lo Schewiakoff ne annovera solo quattro, mettendo in sinonimia tutte le altre.

L'analisi dei caratteri generici fatto dallo Schewiakoff corrisponde egregiamente allo stato delle conoscenze in quel tempo, ma non potrebbe restare assolutamente uguale al presente, da una parte perchè furono in epoca posteriore fondati altri generi per conservare i quali è necessario ben precisare alcuni dati diagnostici di *Anoplophrya*, e, d'altra parte, perchè alcuni dati riguardanti la nuova specie da me descritta permettono una maggiore precisione nella enunciazione dei caratteri.

Senza dilungarmi ad analizzare questi dati, osserverò solo che i nuovi generi di *Anoplophryinae* furono specialmente fondati sulla presenza di differenziazioni dell'apice anteriore dell'infusorio, non di consistenza chitinosa come quelle del genere *Hoplitophrya*, ma di natura cuticolare (infossature permanenti a ventosa, processi a forma di cono ecc.); riservandomi di compiere altrove una completa disamina di tali caratteri, credo di potere enunciare come segue i caratteri dal genere *Anoplophrya*: Corpo lungo, cilindrico o più o meno appiattito, di rado accorciato ovoide con estremo anteriore arrotondato, privo di speciali organi di fissamento o differenziazioni sia cuticolari che chitinose, uniformemente ricoperto di ciglia più o meno

lunghe, senza citostoma, nè citopigo; macronucleo assile allungato e di rado ovoide traversante quasi l'intera cellula; vacuole in una o due serie longitudinali più o meno numerose. Riproduzione per scissione trasversa semplice o multipla.

Anoplophrya paranaidis è una specie molto ben distinta dalle altre, anche se si voglia conservare intatta la sinonimia di SCHEWIAKOFF, che a dire di LÉGER e DUBOSQ è troppo semplicista. Del resto poichè il suo ospitatore è una nuova specie di oligocheto così ben distinta dalle altre del genere *Paranais*, non è strano che anche il parassita sia una forma fin qui sconosciuta.

I caratteri differenziali che rendono *A. paranaidis* ben distinta dalle altre specie riguardano l'aspetto esterno non meno che la interna organizzazione. Innanzi tutto l'estremo posteriore terminato in punta acuta e la eccezionale lunghezza delle ciglia che rivestono il corpo le danno a prima vista una facies del tutto caratteristica, essendo le specie fin qui note, giusta i disegni e le descrizioni degli autori, provviste di estremo codale arrotondato, e di rivestimento di ciglia piuttosto corte.

Quanto alla interna organizzazione il principale carattere distintivo è quello della forma del nucleo, ingrossato nella parte anteriore. Riguardo alle ramificazioni laterali di esso io non potrei assicurare che sia un carattere esclusivo di questa specie, dappoichè esse si mettono in evidenza solo con metodi molto accurati di tecnica, e le specie note prima d'ora, come ho già detto, furono stabilite quasi tutte in seguito a studii compiuti soltanto con l'osservazione degli animali viventi e non di rado in via di degenerazione. Sono anche notevoli le vacuole in numero solitamente scarso, e talora anche assenti; ma, dato che esse aumentano con le cattive condizioni degli individui, neppure questo carattere può ritenersi sistematicamente buono, allo stato delle conoscenze, non potendosi sapere se le „molte vacuole" accusate dagli Autori nelle altre specie rispondano o non ad una condizione esattamente fisiologica degli esemplari da loro osservati.

Per tali ragioni io credo esatto enunciare la diagnosi di *Anoplophrya paranaidis* nel seguente modo:

Corpo cilindrico allungato, poco o nulla appiattito, arrotondato anteriormente, poco ristretto verso la parte posteriore, il cui estremo si termina in punta acuta. Strie vibratili molto ravvicinate, con ciglia lunghe quasi quanto è spesso il corpo; macronucleo

cilindrico protraentesi per quasi l'intera lunghezza del corpo, con estremo anteriore lievemente rigonfio a clava. Allo stato naturale entro l'ospitatore le vacuole sono in numero esiguo ed in una fila.

Lunghezza mm 0,150. Grossezza mm 0,020.

Habitat: Stomaco di *Paranais elongata* mihi, Golfo di Napoli.

Napoli, Istituto Zoologico della R. Università e Stazione Zoologica — Febbraio 1909.

Opere Citate.

1908 Awerinzew, S.: Über ein parasitisches Infusor aus dem Darme von *Ophelia limacina* Ratke. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 90 p. 334.

1885 Balbiani, E. G.: Sur un infusoire parasite du sang de l'Aselle aquatique (*Anoplophrya circulans*). in: Rec. Zool. Suisse Tome 2 p. 277.

1887 Bütschli, O.: Protozoa. in: Bronn's Kl. u. Ordn. des Tierreichs Bd. 1 Abt. 3. Leipzig.

1903 Calkins, G. N.: The protozoan nucleus. in: Arch. f. Protistenk. Bd. 2 p. 213.

1899 Caullery, M. et Mesnil, F.: Sur les parasites des Annélides Polychètes et en particulier de celles de la Manche. in: C. R. Ass. fr. Avanc. sci. Boulogne p. 491.

1903 — —: Sur la structure d'un infusoire parasite des actinies (*Foettingeria* n. g *actiniarum* = *Plagiotoma actiniarum* Clap.). in: C. R. Soc. biol. Tome 55. p. 506.

1907 — —: Sur l'appareil nucleaire d'un infusoire (*Rhizocaryum concavum* n. g. n. sp.) parasite de certaines Polydores (*P. coeca* et *P. flava*). in: C. R. Ass. fr. Avanc. Sci., Congrès de Reims, Tome I p. 250.

1907 Cépède, C.: Remarques à propos des communications de M. M. Caullery, Mesnil et Fauré-Fremiet et description d'*Anoplophrya alluri*, infusoire astome parasite de l'intestin d'*Allurus tetraedrus*. in: C. R. Assoc. fr. Adv. Sci. Reims, Tome I p. 251.

1860 Claparède, E.: Recherches sur les Annelides, Turbellaries, Opalines et Grégarines observés dans les Hébrides. in: Mém. Soc. phys. Hist. Nat. Génève Tome 14.

1858—61 Claparède, E. et Lachmann, J.: Études sur les Infusoires et les Rhizopodes. Génève.

1907 Comes, S.: Untersuchungen über den Chromidialapparat der Gregarinen. in: Arch. f. Protistenk. Bd. 10 p. 417.

1909 Dobell, C. C.: Some Observations on the Infusoria Parasitic in Cephalopoda. in: Quart. Journ. Micr. Sci. (N. Ser.) Vol. 53 p. 183.

1841 DUJARDIN, F.: Histoire naturelle des zoophytes Infusoires. Paris.
1907 FAURÉ-FRÉMIET, E.: L'*Anoplophrya striata* (DUJARDIN). in: C. R. Ass. fr. Adv. Sci. Reims (2) Tome 36 p. 653.
1853 FFEY, H.: Das einfache tierische Leben. in: Monatschr. d. wiss. Ver. Zürich Bd. 3.
1905 GONDER, R.: Beiträge zur Kenntnis der Kernverhältnisse bei den in Cephalopoden schmarotzenden Infusorien. in: Arch. f. Protistenk. Bd. 5 p. 240.
1884 GRUBER, A.: Über Kern und Kernteilung bei den Protozoen. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 60 p. 121.
1888 —: Weitere Beobachtungen an vielkernigen Infusorien. in: Ber. d. Naturf. Ges. Freiburg Bd. 3 p. 57.
1898 HERTWIG, R.: Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung in *Actinosphaerium Eichhorni*. in: Abh. bayr. Akad. d. Wiss. München Bd. 19 p. 633.
1902 —: Die Protozoen und die Zelltheorie. in: Arch. f. Protistenk. Bd. 1 p. 1.
1880—82 KENT W. S.: A Manual of the Infusoria. London.
1896 LABBÉ, A.: Recherches zoologiques, cytologiques et biologiques sur les Coccidies. in: Arch. Zool. expér. p. 517.
1870 LANKESTER, E. RAY: Remarks on *Opalina* and its contractile vesicles, on Pachydermon and annelidan spermatophors. in: Quart. Journ. Micr. Sci. (N. Ser.) Vol. 10 p. 143.
1904 LÉGER, L. et DUBOSCQ, Q.: Notes sur les Infusoires endoparasites. in: Arch. Zool. expér. (4) Tome 12 p. 337.
1877 LEIDY, J.: Remarks on some parasitic Infusoria. in: Proc. Ac. nat. Sci. Philadelphia (2) Vol. 3 p. 259.
1903 MAIER, H. N.: Über den feineren Bau der Wimperapparate der Infusorien. in: Arch. f. Protistenk. Bd. 2 p. 73.
1907 METCALF, M. M.: The Excretory Organ of Opalina. in: Arch. f. Protistenk. Bd. 10 p. 365.
1909 PIERANTONI, U.: Sul genere *Paranais* e su di una nuova specie del Golfo di Napoli (*Paranais elongata* n. sp.). in: Mitt. zool. Stat. Bd. 19.
1905 RUSSO, A. e DI MAURO, S.: Frammentazione del macronucleo nel *Cryptochilum echini* MAUPAS e sua significazione per la senescenza degli infusorii. in: Boll. Accad. Gioenia Sc. Nat. Catania Fasc. 84.
1902 SCHAUDINN, F.: Beiträge zur Kenntnis der Bacterien und verwandter Organismen. I. *Bacillus bütschlii* n. sp. in: Arch. f. Protistenk. Bd. 1 p. 306.
1903 —: Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. in: Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Berlin Bd. 19 p. 547.
1896 SCHEWIAKOFF, V. T.: Organizzazione e sistematica degli *Infusoria aspirotricha* (*Holotricha auctorum*). in: Mem. Accad. Imp. Sci. Pietroburgo (8) Vol. 4 No. 1 (in lingua russa).
1883 SCHNEIDER, AI.: Nouvelles observations sur la sporulation du *Klossia octoplana*. in: Arch. Zool. expér. (8) Tome 1 p. 77.
1886 —: *Anoplophrya circulas*. in: Tablettes zoologiques Tome 1 p. 31.
1851 SCHULTZE, M.: Beiträge zur Naturgeschichte der Turbellarien. Greifswald.
1898 SIEDLECKI, M.: Étude citologique et cycle evolutif de la coccidie de la Seiche. in: Ann. Inst. Pasteur Tome 12 p. 799.
1902 —: *Herpetophrya astoma* n. g. n. sp., infusoire parasite des Polymnies. in: Bull. Acad. Sci. Cracovie p. 356.
1905 —: Über die Bedeutung des Caryosoms. in: Bull. Acad. Cracovie Tome 15 p. 559.

1851 Stein, Fr.: Neue Beiträge zur Kenntnis der Entwicklungsgeschichte und des feineren Baues der Infusionstiere. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 3 p. 479.
1859 —: Über die ihm bis jetzt bekannt gewordenen und von ihm genauer erforschten Infusorien, welche im Inneren von anderen Tieren eine parasitische Lebensweise führen. in: Abh. d. kais. böhm. Ges. Bd. 10 p. 35.
1859 —: Der Organismus der Infusionstiere nach eigenen Forschungen in systematischer Reihenfolge bearbeitet. Abt. I. Leipzig.
1860 —: Über die Einteilung der holotrichen Infusionstiere und einige neuere Gattungen und Arten dieser Ordnung. in: Sitz.-Ber. d. kgl. böhm. Ges. p. 56.
1884 —: Die Infusionstiere auf ihre Entwicklungsgeschichte untersucht. Leipzig
1879 Vejdovský, F.: Monographie der Enchytraeiden. Prag.

Spiegazione delle Tavole.

Lettere comuni a più figure:

cbc = corpuscoli basali delle ciglia.
cn = globuli nutritivi.
cr = sostanza intensamente colorabile (cromatina).
cut = cuticola.
ecpl = ectoplasma.
epl = endoplasma.
es = epitelio stomacale (di *Paranais*).
ia = involucro acromatico del macronucleo.
ifa = infossatura anteriore.
min = mionemi.
Mn = Macronucleo.
mn = micronucleo.
pi = parete intestinale (di *Paranais*).
pvs = plesso vasale periintestinale (di *Paranais*).
rn = ramificazioni del macronucleo.
sa = sostanza poco colorabile del macronucleo (plastina).
sad = sostanza adesiva.
sv = stria vibratile.
vac = vacuola.

Tavola V.

Fig. 1. *Anoplophrya paranaidis* riprodotta dal vivo; esemplare adulto. × 1500.

Fig. 2. La stessa, esemplare gemmante. × 1500.

Fig. 3. Tre esemplari della stessa, in via di accrescimento, come si rinvengono attaccati alla parete intestinale quando questa viene aperta e rovesciata. × 1500.

Fig. 4. Slargamento stomacale di *Paranais elongata*, ripieno di individui di *Anoplophrya paranaidis*. × 350.

Fig. 5. Sezione ottica di un esemplare della stessa *Anoplophrya* in via di degenerazione per aver dimorato alcun tempo fuori del suo ambiente naturale. × 1500.

Tavola VI.

(Tutte le figure si riferiscono ad *Anoplophrya paranaidis*.)

Fig. 1. Porzione della parete del corpo osservata a fortissimo ingrandimento (colorazione all'emallume di Mayer). × 3500.

Fig. 2. Il macronucleo come si presenta in diversi periodi della vita del parassita (esemplari colorati in toto con emallume); a, in un esemplare appena

generato per gemmazione; b, c, d, in tre fasi di graduale accrescimento; e, f, g, in esemplari che si avvicinano sempre più al massimo sviluppo ed al periodo riproduttivo. × 1000.

Fig. 3. Sezione sagittale passante pel macronucleo e per una vacuola (colorazione con emallume). × 1500.

Fig. 4. Taglio passante per la parete dello slargamento stomacale dell' intestino di *Paranais elongata*, ed attraverso la parte anteriore di un parassita ad essa aderente (colorazione con emateina previa lieve colorazione con carminio boracico). × 1800.

Fig. 5. Taglio trasverso passante pel macronucleo e pel micronucleo (emallume). × 1500.

Fig. 6. Forme in cui si presenta il micronucleo nelle diverse fasi della sua attività riproduttiva. × 2000.

Fig. 7. Taglio obliquo passante pel macro- e pel micronucleo (emallume). × 1600.

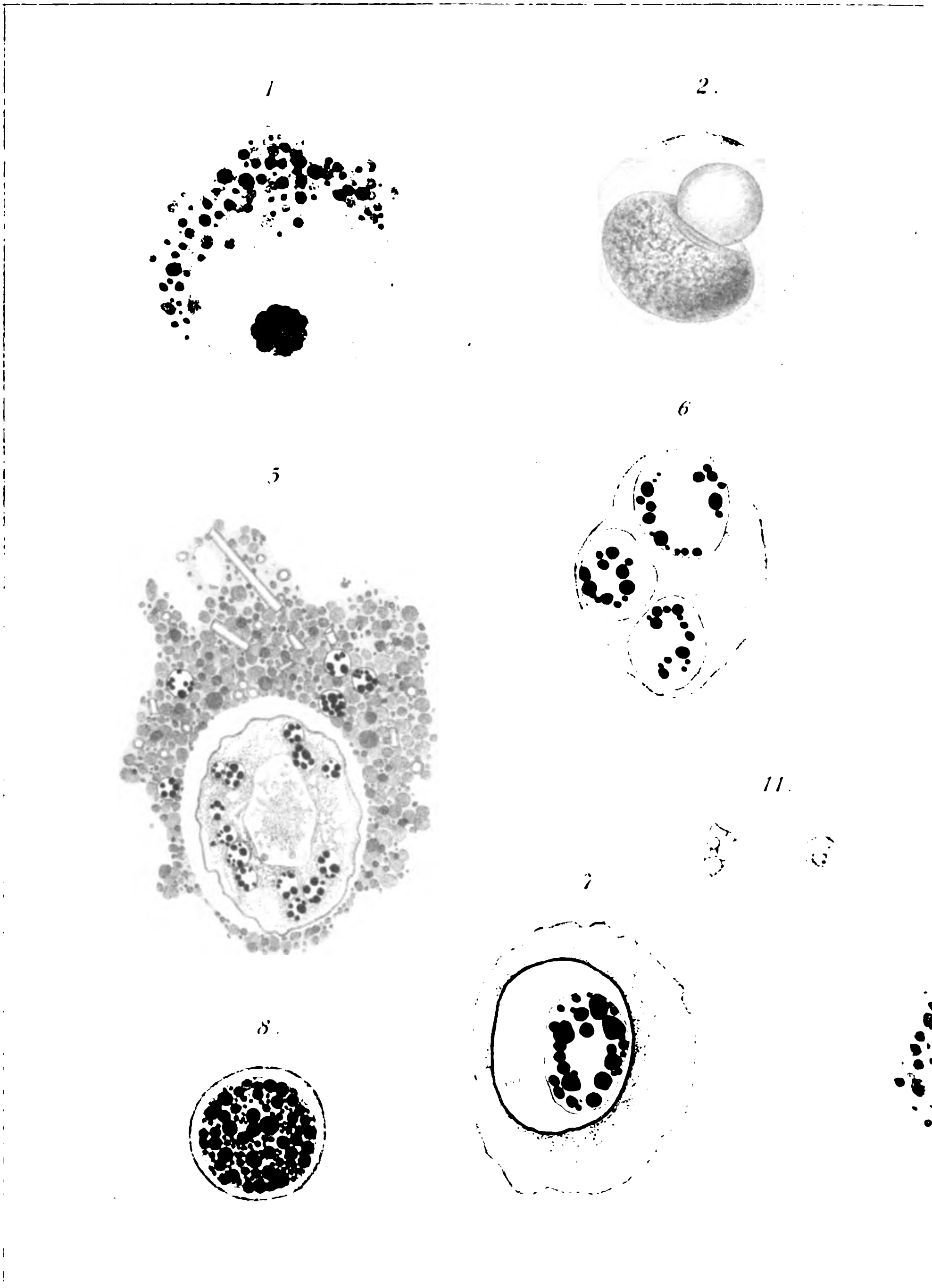
Fig. 8. Porzione del macronucleo in un taglio obliquo colorato con ematossilina ferrica. × 2200.

Fig. 9—11. Tagli trasversi dello stesso in preparati colorati con ematossilina ferrica. × 2200.

Fig. 12—13. Tagli longitudinali del macronucleo in preparati colorati con carminio boracico e verde di metile. × 2200.

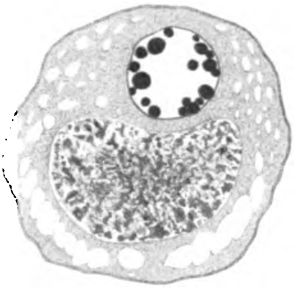
Fig. 14. Taglio trasverso idem. × 2200.

Le figure di questa tavola furono tratte da preparati di sezioni osservati con gli obbiettivi ad immersione del KORISTKA (apocromatico 2 mm, semiapocromatico $^1/_{15}$) e con tutta la serie degli oculari compensatori. Per l'uso dei compensatori 12 e 18 fu usata una sorgente di luce artificiale costituita dalla lampada ad incandescenza a gas sistema AUER del LEITZ, a cui fu applicato un condensatore sferico costituito da un matraccio contenente soluzioni lievemente colorate.

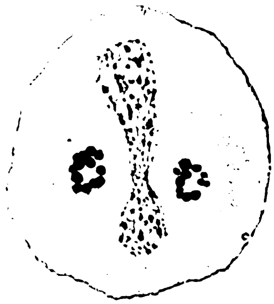


Astheimer gez.
Borgert

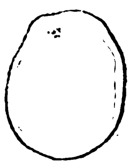
3.



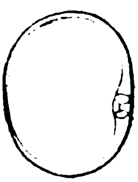
4.



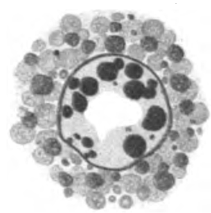
10.



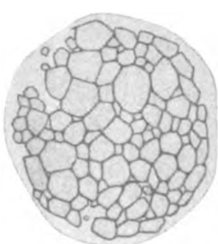
9



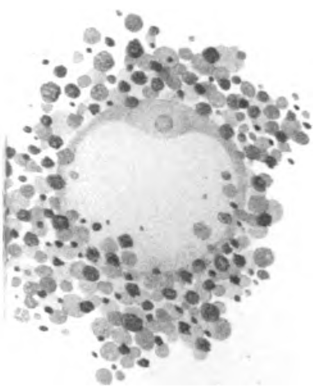
13.



14



12.



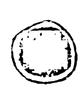
15.

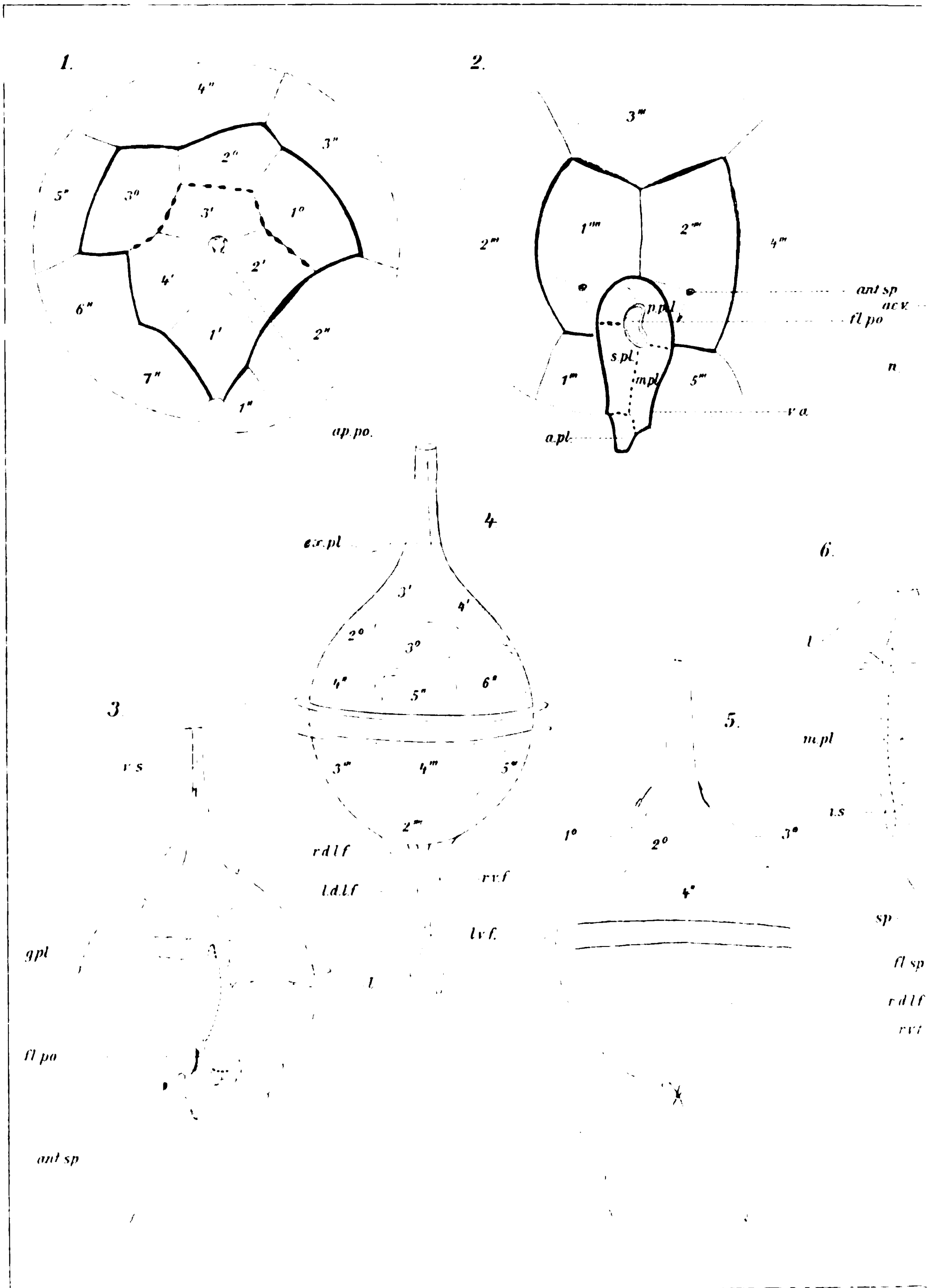


16.

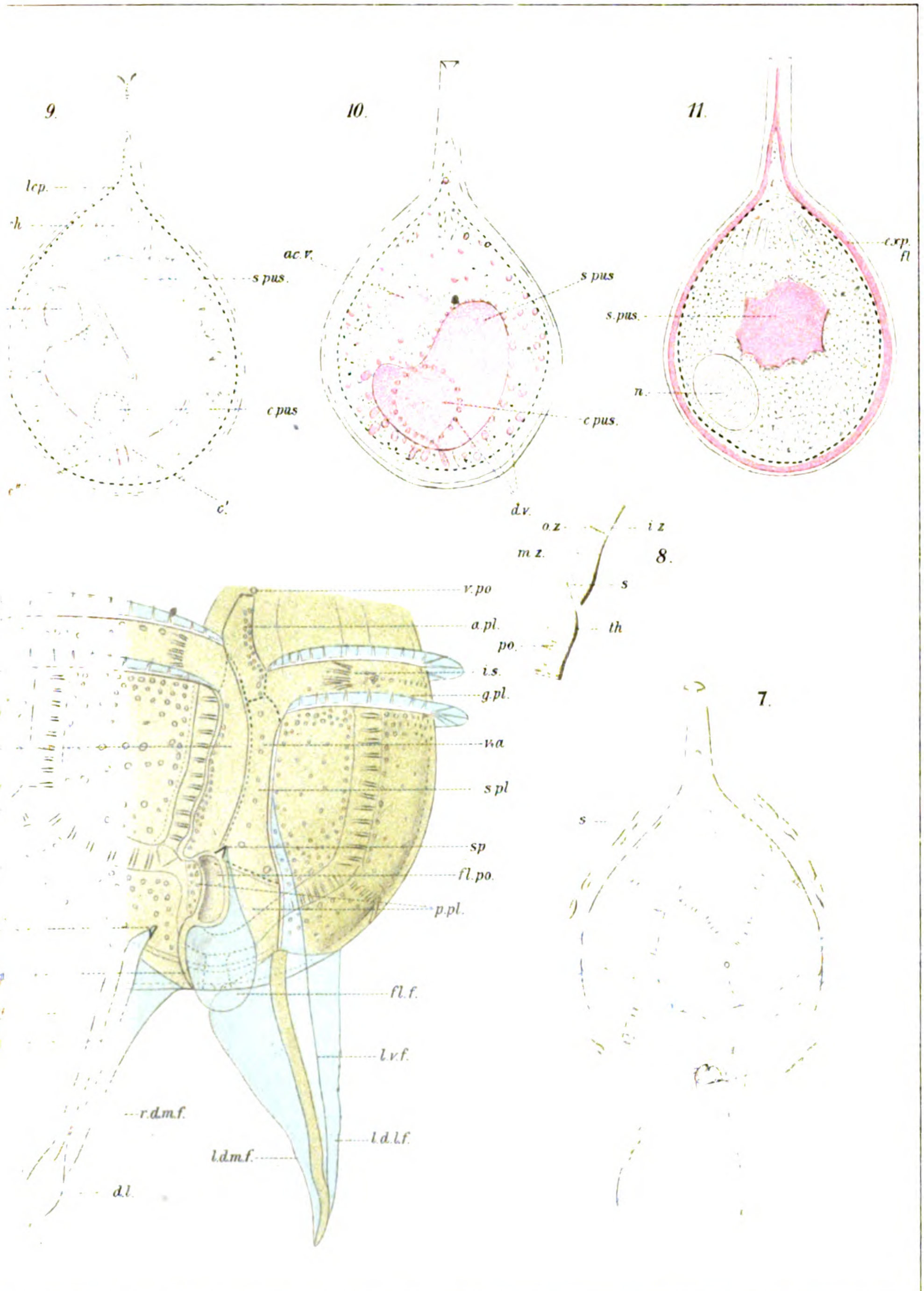


17.





Verlag von Gustav Fr



scher in Jena. Lith Anst v Johannes Arndt Jena.

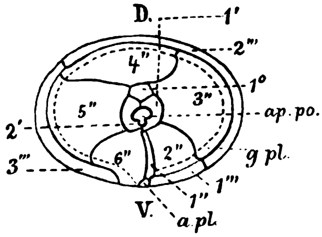


Fig. 1.

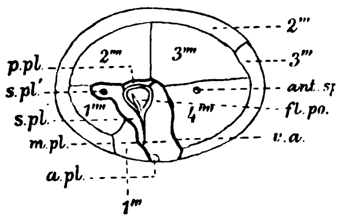


Fig. 2.

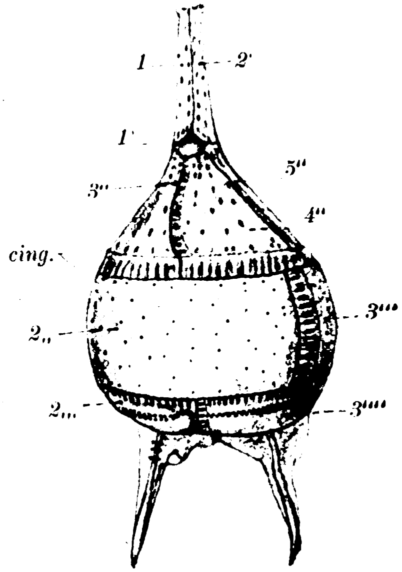


Fig. 3.

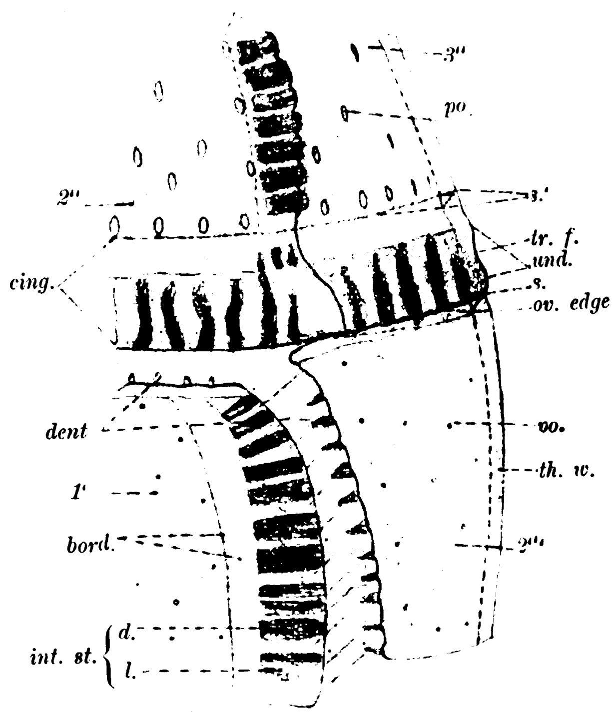


Fig. 5.

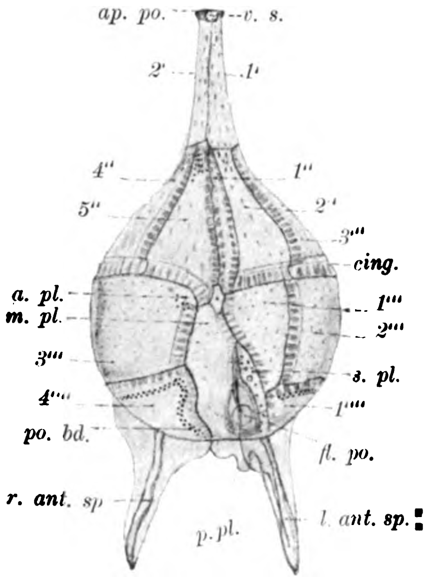


Fig 4.

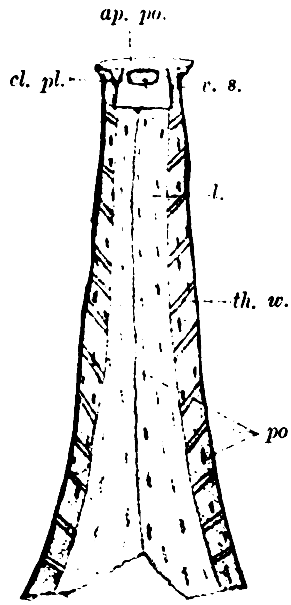


Fig. 6.

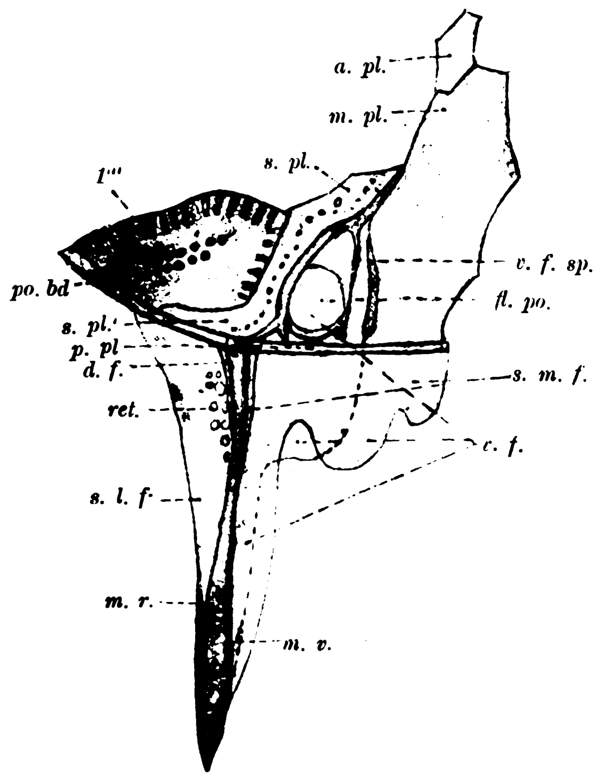
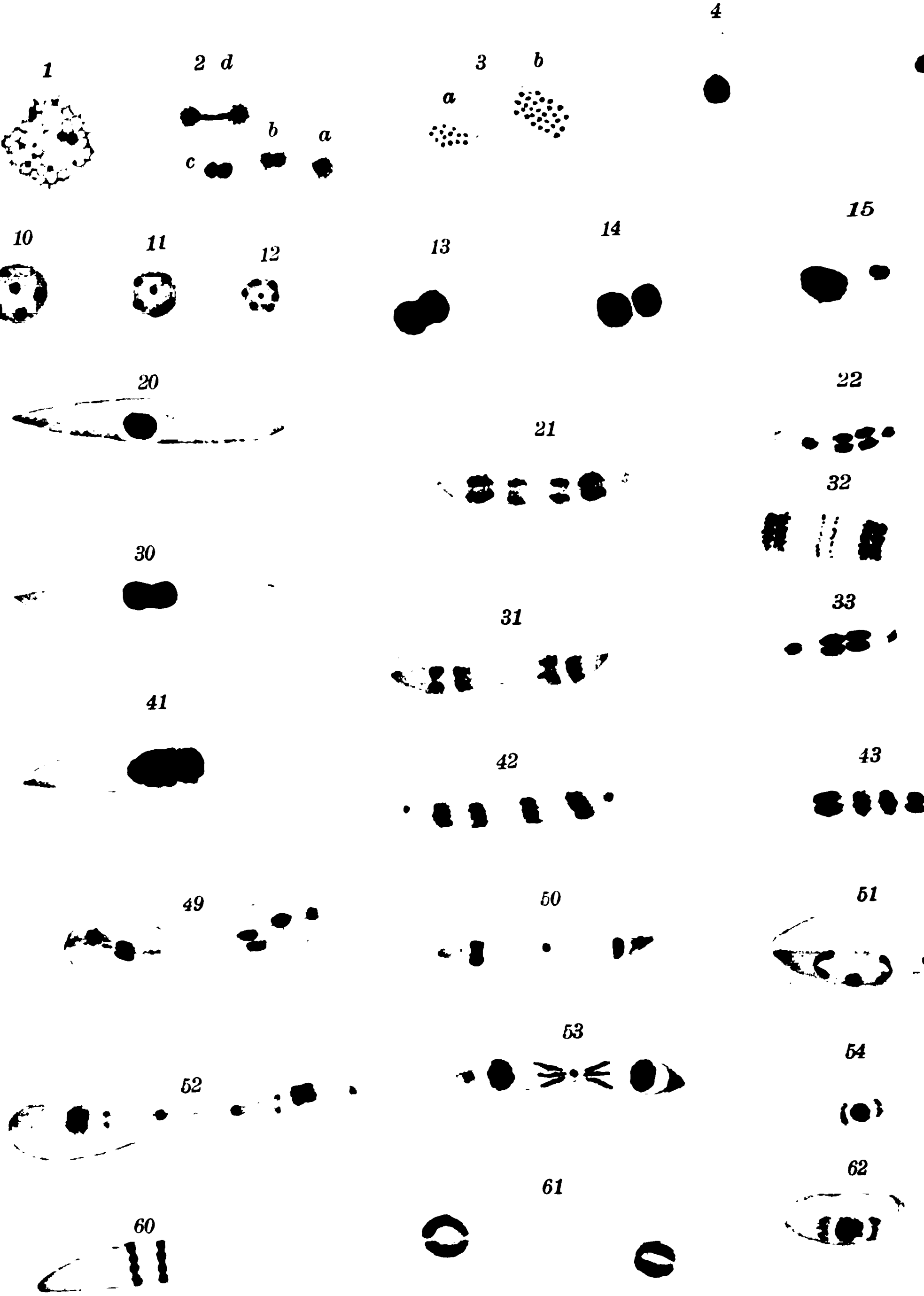


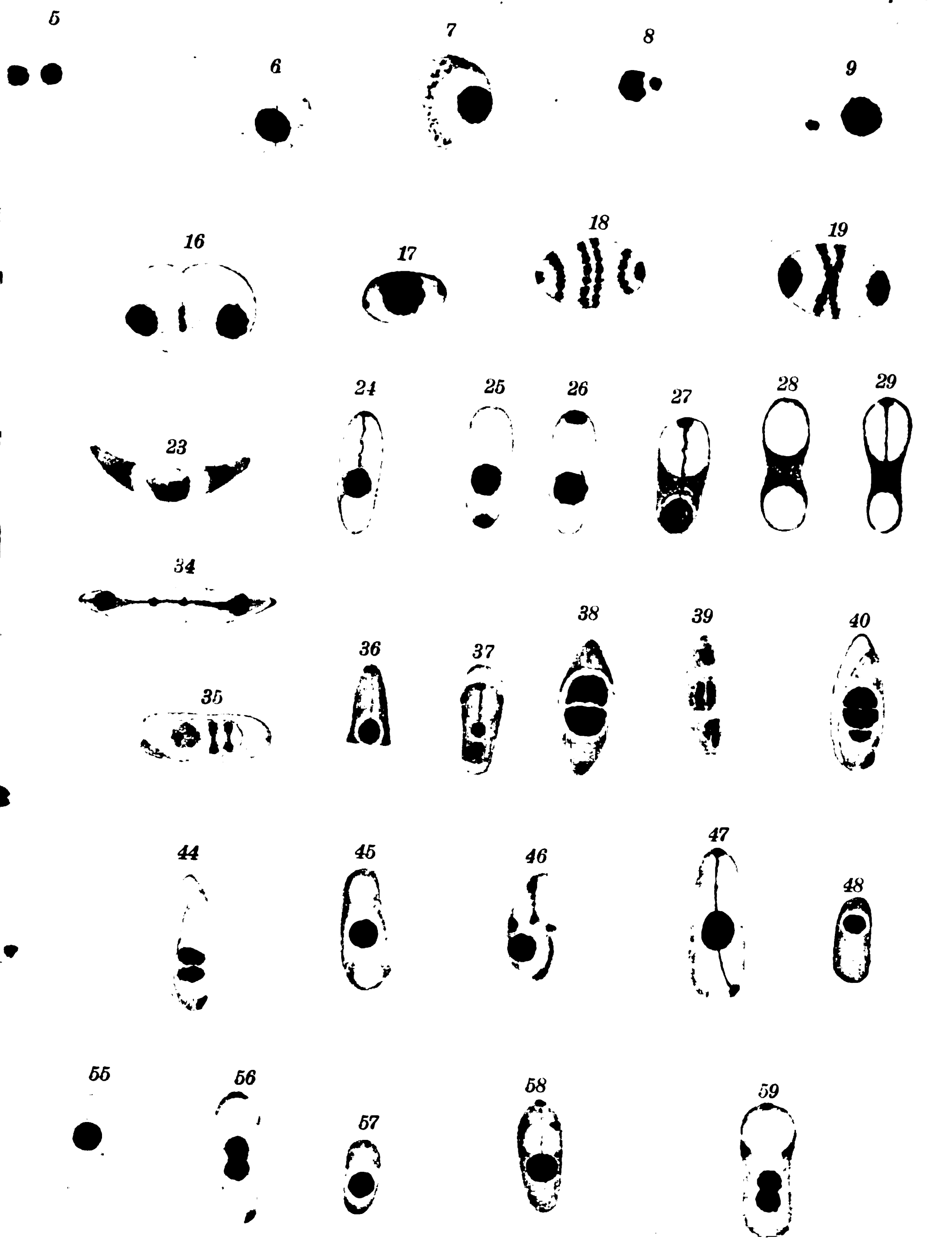
Fig. 7.

Gustav Fischer in Jena.



Awerinzew.

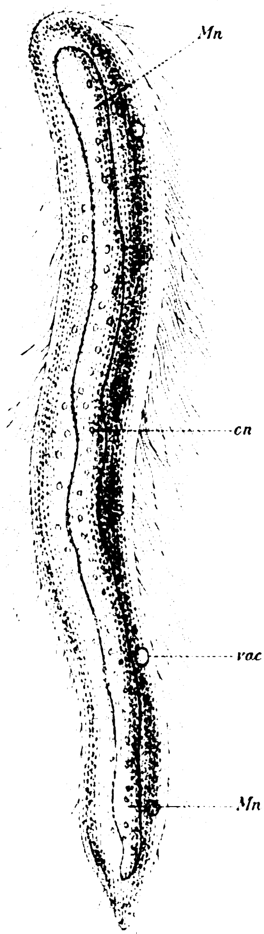
Verlag von Gust



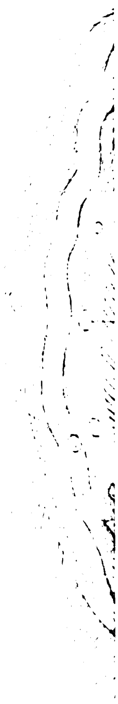
J. B. Obernetter, München, reprod.

tav Fischer in Jena.

1.

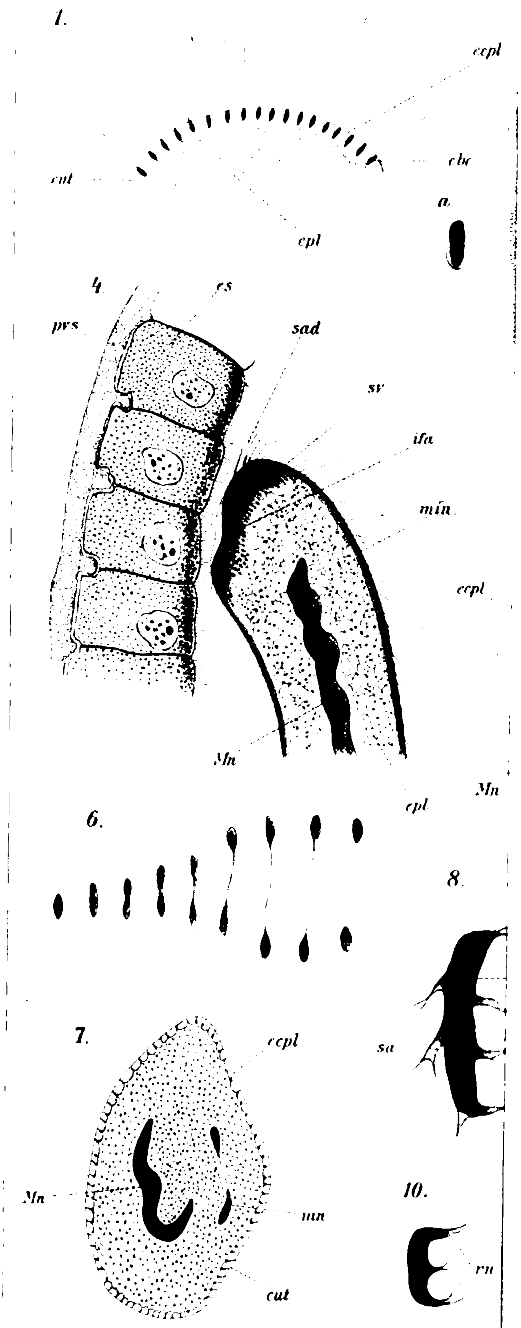


2.



4.




1.
ecpl
cut
cbc
a.
epl
4.
es
prs
sad
sv
ifa
min
ecpl
Mn
epl
Mn
6.
8.
7.
ecpl
sa
Mn
mn
10.
cut
rn

Documents sur quelques Sporozoaires d'Annélides.

Par
Louis Brasil (Caen).

(Avec les Planches VII—X.)

Sommaire.

Selenidium pendula Giard.
Pl. VII fig. 2.

1884 *Selenidium pendula* Giard: *Sur un nouveau groupe de Protozoaires parasites des Annélides.* Assoc. franç. Avanc des Sci. Congrès Blois p. 192.

1899 *Selenidium pendula* Caullery et Mesnil: *Sur quelques parasites internes des Annélides.* Trav. Stat. zool. Wimereux T. VII p. 80.

1903 *Selenidium pendula* Minchin: *Sporozoa in* Treat. on Zoology ed. by Ray Lankester Part I fasc. 2 p. 327.

Selenidium pendula a été décrit en quelques lignes et n'a jamais été figuré. Il importe cependant beaucoup que cette forme soit bien définie car dans le démembrement possible du genre, c'est elle qui retiendra le nom *Selenidium.*

Giard (1884) est le premier à avoir rangé dans un genre spécial ces Grégarines vermiformes des Annélides dont plusieurs déjà avaient été vues et figurées, en particulier par Claparède (1861) et par Ray Lankester (1863) qui en avaient d'ailleurs tous deux reconnu la nature grégarinienne. Il le fait en ces termes:

„Ces parasites ont été entrevus par quelques zoologistes et considérés tantôt comme des Grégarines, tantôt comme des embryons de Nématoïdes.

Ce sont des êtres monocellulaires à cuticule épaisse doublée par des fibres musculoïdes longitudinales et annulaires.

L'espèce prise pour type, le *Selenidium pendula*, habite la cavité générale du corps des Annélides du genre *Nerine*. Le nom rapelle les mouvements pendulaires caractéristiques de tout le groupe. D'autres formes voisines sont parasites des Phyllodoces, des *Cirrhatulus*, des Serpules, etc.“

La diagnose est un peu vague, au moins au point de vue spécifique en ce qui concerne *Selenidium pendula*. Aussi Labbé (1899) dans les Sporozoa du Tierreich place-t-il *Selenichum* (*sic*) avec un point de doute dans la synonymie de *Polyrhabdina* [Mingazzini], sans faire figurer d'ailleurs *S. pendula* dans la liste des espèces citées.

Caullery et Mesnil (1899) en nous apprenant que *Selenidium pendula* „habite en réalité le tube digestif des *Nerine cirratulus* de Wimereux“ rectifient et précisent la diagnose de Giard, apportant ainsi une première contribution à une meilleure connaissance da la Grégarine. Nous achèverons de la fixer définitivement par une description plus ample et une figure, d'après des spécimens recueillis à Luc-sur-mer (Calvados) où *Nerine cirratulus* abonde, l'Annélide contenant invariablement le parasite.

C'est un vermicule robuste (Pl. VII fig. 2), de section circulaire, s'amincissant régulièrement aux deux extrémités. Le plus souvent celles-ci sont toutes deux pointues, mais de l'extrémité considérée par cela même comme antérieure peut saillir un petit bouton adhésif sphéroïdal.

La surface montre nombreuses les stries longitudinales caractéristiques du genre *Selenidium*. Il y en a environ une trentaine. Elles sont peu profondes, mais cependant très apparentes. Elles s'étendent directement d'une extrémité à l'autre.

Le cytoplasme se présente sous deux aspects. Une mince couche de cytoplasme hyalin entoure le noyau et se prolonge en s'effilant

de part et d'autre de ce dernier dans l'axe de la Grégarine.[1]) Le reste du cytoplasme est granuleux. Les granules très serrés les uns contre les autres sont alignés transversalement. Cette disposition déja bien visible sur les individus vivants s'exagére avec la fixation. C'est sans doute une dualité analogue du cytoplasme et un arrangement semblable des granules que MINGAZZINI (1893) figure pour un „*Polyrhabdina spionis* KÖLL.“ (Pl. II fig. 52). La disposition transversale des granules est d'ailleurs très fréquemment observable chez les *Selenidium*. Le fait a été déjà signalé par CAULLERY et MESNIL (1899). Nous en verrons d'ailleurs un nouvel exemple plus loin avec *Selenidium Mesnili* n. sp. C'est encore à une semblable structure du cytoplasme qu'on doit bien probablement attribuer l'aspect quadrillé de la Grégarine de Phyllodoce figurée par CLAPARÈDE (1861).

L'existence d'un axe de cytoplasme hyalin est un caractère moins commun. On vient de le voir, je crois le retrouver dans une figure de MINGAZZINI. Si l'interprétation est juste, il se retrouve également chez les *Selenidium* de *Polydora flava* et de *Pygospio seticornis* pour lesquels CAULLERY et MESNIL (1899) disent: „On observe une sorte de feuillet longitudinal qui sépare la Grégarine en deux moitiés; il manque à l'endroit du noyau. MINGAZZINI note une disposition semblable chez sa *Polyrhabdina spionis*.“ Or le texte de MINGAZZINI ne contient aucune remarque de ce genre. CAULLERY et MESNIL n'ont pu avoir en vue qu'une figure, précisement la figure 52 de la planche II, celle que j'ai citée ci-dessus.

Le noyau est ovale avec son grand axe dans le sens de la longueur de la Grégarine. Il n'en est pas ainsi pour tous les *Selenidium*. Chez certains le grand axe du noyau est transversal. LÉGER (1892, Pl. V fig. 1), CAULLERY et MESNIL (1899, Pl. IX fig. 1—3) en ont figuré des exemples. Le fait est surtout évident chez un *Selenidium* d'*Audouinia tentaculata*, celui sans doute que LÉGER a représenté. Il est intéressant de noter cet exemple de l'orientation dans des plans rectangulaires des grands axes respectifs d'une cellule et de son noyau.

Dans l'intestin de *Nerine cirratulus*, *Selenidium pendula* est, soit fixé sur l'épithélium par son bouton adhésif, soit libre dans la cavité. Malgré de minutieuses recherches aucun stade intracellulaire, même partiel, n'a été rencontré. De même il n'a pas été possible de déceler aucun indice de multiplication schizogonique. D'ailleurs si

[1]) Dans la figure de *Selenidium pendula* (Pl. VII fig. 2) cet axe hyalin est representé à tort comme étant grossièrement granuleux.

toutes les *Nerine* de notre littoral contiennent la Grégarine, on ne trouve pas par contre de ces infections intensives qui généralement chez l'hôte résultent de la multiplication schizogonique du parasite.

Le début de la conjugaison s'observe au contraire communément. Les conjoints sont accouplés par leur extrémité postérieure qui s'élargit. Chacun d'eux devient conique. La surface de contact n'est pas plane; l'un des *Selenidium* pénètre assez profondément par sa base convexe dans la base concave de l'autre. La multiplication nucléaire se fait par ce procédé dont CAULLERY et MESNIL (1900 a) ont donné une description et qui paraît commun à toutes les espèces du genre.

Les mouvements de *Selenidium pendula* sont particulièrement amples et rapides. Lorsque le parasite est fixé sur l'épithélium c'est un mouvement pendulaire plan déterminant l'ondulation rhythmique du corps. Si le *Selenidium* est libre, par exemple comme ceux que l'on observe dans les dilacérations d'intestin, la région antérieure n'étant plus fixée, elle participe au mouvement général, battant alternativement d'un côté et de l'autre, le corps conservant ses ondulations; la Grégarine est animée d'un mouvement de serpentement sur place. Il est en effet à remarquer que les *Selenidium* semblent incapables par leurs propres moyens de déplacements d'ensemble visibles. De même des modifications dans la forme de leur corps sont extrêmement limitées. Elles se restreignent à l'extension et à l'invagination du bouton adhésif antérieur, puis à une légère contraction d'ensemble dans le sens du grand axe, contraction ayant pour conséquence la diminution de la longueur de la Grégarine qui en même temps se renfle. Par contre on n'observe pas de ces contractions locales que beaucoup de Grégarines d'Annélides présentent, en particulier les *Doliocystis* et surtout les Monocystidées cœlomiques.

Cette faculté de *Selenidium pendula* de pouvoir s'étendre ou se contracter rend difficile la détermination de ses dimensions. Les plus grands individus ne paraissent pas dépasser 180 μ en longueur sur 30 à 40 μ en largeur.

Selenidium Mesnili n. sp.

Pl. VII fig. 6—8.

Espèce massive parasite de *Myxicole infundibulum* RENIER. A PENPOULL, près de ROSCOFF, l'Annélide qui est commune montre toujours le parasite. Celui-ci est logé dans l'épithélium intestinal, parfois très profondément, au contact de la basale et sans communi-

cation avec la cavité digestive. Il est toujours orienté de telle sorte que son grand axe soit parallèle à celui des cellules épithéliales (Pl. VII fig. 6).

Bien que chaque *Myxicole* contienne un nombre assez grand d'individus, tous ceux que j'ai pu voir jusqu'ici paraissaient au même degré d'évolution; leurs dimensions, leur aspect étaient sensiblement identiques. Je n'ai rencontré aucun jeune stade et il m'est impossible de dire si le début du développement se passe dans l'épithélium ou si le sporozoïte se pique simplement d'abord à sa surface ne pénètrant dans les tissus que plus tardivement. De même dans les coupes, je n'ai jamais observé d'individus libres dans la cavité digestive. Enfin comme pour *Selenidium pendula* et quelques autres espèces encore inédites, je n'ai pu reconnaître chez *Selenidium Mesnili* aucune indication de multiplication schizogonique.

Selenidium Mesnili est une espèce beaucoup moins allongée que *Selenidium pendula*, quand on l'observe dans l'épithélium de l'hôte. C'est une Grégarine en forme d'outre dont la longueur peut atteindre de 75 à 85 μ, la largeur variant de son côté entre 20 et 25 μ.

Le cytoplasme est constitué en majeure partie par des granules dont la disposition en couches régulières transversales est particulièrement apparente. La rétraction du cytoplasme provoquée par l'action des fixateurs en amenant des décollements de place en place entre les assises de granules donne à la Grégarine dans les préparations permanentes un aspect zèbré particulier (Pl. VII fig. 6).

Les stries longitudinales caractéristiques des *Selenidium* sont an nombre de 20 à 24. Elles sont profondes et donnent à la section transversale un contour plus franchement denticulé (Pl. VII fig. 8) que celui que présente la section de *Selenidium Caulleryi* dont les stries longitudinales sont en nombre analogue, mais sont moins accentuées.

Le noyau est ovale, souvent transversal. Il est pourvu d'un gros caryosome sphérique qu'accompagnent généralement de plus petites sphérules chromatiques.

Ce qui distingue surtout *Selenidium Mesnili* des espèces déjà connues, en dehors de son habitat et des caractères indiqués ci-dessus, c'est la présence constante vers l'extrémité obtuse — celle qui est située le plus profondément dans l'épithélium, — de quelques très gros grains chromatiques irrégulièrement ovoïdes et de dimensions différentes (Pl. VII fig. 6—7). Ces gros grains sont très visibles sur le vivant. Ils retiennent indifféremment et avec le même intensité tous les colorants nucléaires. Il m'a été impossible d'élucider la

nature et le rôle de ces corpuscules. Ce ne sont pas des parasites analogues à ceux que Caullery et Mesnil (1905) ont signalé chez certains *Selenidium* (de *Spio Martinensis* et de *Scolelepis fuliginosa*) et dont j'ai moi-même observé des stades nombreux et très variés d'aspect chez le *Selenidium* qui parasite *Pomatoceros triqueter*. Là, les inclusions sont répandues dans toute l'étendue de la Grégarine et il est facile de mettre en évidence des détails de structure interne qu'on rechercherait vainement dans les corpuscules intracytoplasmiques de *Selenidium Mesnili*; ceux-ci semblent en effet être constitués par une substance massive et homogène. Ce caractère fait exclure pour ces corps une nature parasitaire; s'ils n'appartiennent pas à la structure fondamentale de la Grégarine, ils doivent dériver de son activité métabolique.

Mis en liberté, par dilacération de l'intestin de l'hôte, *S. Mesnili* qui est immobile dans l'épithélium, exécute sans arrêts les mouvements propres aux *Selenidium* mais avec une lenteur relative.

Doliocystis elongata (Mingazzini).

Pl. VII fig. 1, 3, 5; Pl. VIII fig. 1—3; Pl. IX fig. 1—13.

1893 *Ophioidina elongata* Mingazzini: *Contributo alla Conosc. degli Sporozoi.* Ric. Labor. Anat. norm. R. Univers. Roma Vol. III fasc. I p. 53 Pl. II fig. 24—35.
1899 *Doliocystis elongata* Labbé: *Sporozoa* in Tierreich Lif. V p. 33.
1903 *Doliocystis elongata* Minchin: *Sporozoa in* Treat. on Zoology ed. by Ray Lankester Part I fasc. 2 p. 327.
1908 *Doliocystis elongata* Brasil: *Le genre Doliocystis.* C. R. Acad. Sc. Paris T. 146 p. 425.
1908 *Doliocystis elongata* Brasil: *La croissance de Doliocystis elongata dans l'intestin de Lumbriconereis impatiens* Clap. C. R. Soc. Biologie T. LXIV p. 355.

Cette Grégarine a été découverte par Mingazzini qui a créé pour elle et des espèces voisines le genre *Ophioidina.* Ce genre rentra d'ailleurs de suite dans la synonymie de *Doliocystis* Léger, plus ancien de quelques semaines seulement. *Ophioidina* fut publié le 15 Juin 1893, *Doliocystis* le 30 Janvier de la même année.

Les jeunes individus de la nouvelle Grégarine apparurent à Mingazzini (1893) sous deux aspects différents. Les uns, dit-il, sont piriformes avec l'endoplasme granuleux, très dense et opaque, une petite zone de métaplasme hyalin localisée dans la région céphalique et un noyau central; les autres sont allongés, cylindriques, avec un endoplasme réduit à quelques granules épars dans le métaplasme

qui forme la masse entière du corps, et un noyau situé au tiers antérieur environ; les individus allongés en continuant à s'accroître principalement en longueur, deviennent les adultes.

Ainsi que je l'ai dit ailleurs — Brasil (1908 a) —, le dimorphisme décrit par Mingazzini pour les formes jeunes de *Doliocystis elongata* est un fait exact. Il répond à une différence de situation du parasite dans l'hôte, soit qu'il siège dans l'épithélium intestinal, soit qu'il habite la cavité digestive. Les figures qui accompagnent ce travail mettent le fait en lumière (Pl. IX).

J'ai trouvé en abondance *Doliocystis elongata* dans le tube digestif de *Lumbriconereis impatiens* Claparède. Mon ami le Professeur Fauvel d'Angers, le spécialiste bien connu, a eu l'obligeance d'examiner l'Annélide et de m'en confirmer la détermination. C'est sans doute cette même espèce que Mingazzini eut entre les mains. Il n'en donne pas le nom, mais elle est commune dans la Méditerranée. *Lumbriconereis impatiens* est au contraire assez rare dans le voisinage de notre Laboratoire de Luc-sur-mer. Cette rareté est compensée par le fait que tous les individus sont parasités et le plus souvent d'une façon intense.

Le sporocyste introduit avec les aliments dans la cavité intestinale de l'Annélide s'ouvre sous l'influence des sucs digestifs et les sporozoïtes mis en liberté doivent pénétrer dans la tunique épithéliale de l'intestin et la traverser à la manière de ceux dont le passage a pu être suivi.

Le sporozoïte s'enfonce jusqu'à la base de l'épithélium. Il s'établit au contact d'une maille du réseau lacunaire sanguin qui double en alternant ses mailles avec les siennes, le réseau musculaire formé par les fibres circulaires et longitudinales de la musculature péri-intestinale. En grossissant le parasite vient saillir, et cela de plus en plus, dans la lacune vasculaire. Il est bientôt entouré par le liquide sanguin sur presque toute sa surface, il n'est plus alors relié à l'épithélium que par une sorte de pédoncule étroit.

Le plus petit individu que j'aie été à même d'observer a environ 10 μ dans sa plus grande dimension. C'est un petit corps ovoïde limité par une membrane très mince, constitué par du cytoplasme finement granuleux et très dense (Pl. IX fig. 1). Le noyau est sphérique; il présente déjà les caractères qui resteront uniformes pendant toute la croissance et qu'on retrouve aussi chez l'adulte. Pour tous, le noyau est sensiblement sphérique; il est rempli de suc nucléaire homogène et contient en outre un ou plusieurs caryosomes lenticulaires toujours appliqués contre la membrane. Sous l'influence

des fixateurs le suc nucléaire se coagule sous la forme d'un léger reticulum rétracté le plus souvent au centre du noyau et par là sans connexion avec la membrane.

La parasite grandit, puisant sans doute le principal de son alimentation dans le sang qui le baigne. Il conserve sa forme initiale et bientôt quitte le niveau de la basale pour s'élever dans l'épithélium. Le chemin qu'il a parcouru dans sa migration reste d'ailleurs visible après son passage. Les cellules y sont désorganisées, déchirées, plus colorables. Des noyaux sphériques avec la chromatine en gros grains périphériques et qu'on rencontre çà et là à la partie profonde de l'épithélium, contrastant par leur forme et la localisation du matériel chromatique avec les noyaux allongés finement et uniformément ponctués de chromatine, se montrent plus abondants dans le sillage de la Grégarine. Celui-ci est encore jalonné par des infiltrations de sang dues à la rupture des parois du sinus péri-intestinal au moment du départ du parasite. Ces infiltrations se manifestent d'abord sous la forme de traînées qui avec le temps se contractent en quelques sphérules de dimensions variables. Le plus souvent un placard de sang reste adhérent à la Grégarine et la suit dans sa migration (Pl. IX fig. 4—6).

Pendant toute cette première partie de la croissance le cytoplasme ne semble pas subir de modifications sensibles. De son côté le noyau augmente simplement de volume. Ainsi le *Doliocystis* peut atteindre jusqu'à 75 μ dans son plus grand axe. On le voit alors occuper les régions où l'épithélium est le plus élevé (Pl. IX fig. 6). C'est en général un gros corps oviforme tournant son pôle le plus étroit vers la profondeur de l'épithélium. Ce pôle présente une différenciation cytoplasmique déjà existant aux stades précédents, mais toujours peu visible sur les coupes, à l'inverse de ce que montrent les individus des frottis où elle est très apparente. J'en reporte donc la description au paragraphe suivant consacré à ces derniers. Au dessus du parasite intra-épithélial parvenu au terme de sa croissance, le tissu commence à dégénérer, il se remplit de boules mucoïdes et se creuse de lacunes. Bientôt il éclatera et la Grégarine sera mise en liberté.

Au lieu d'examiner des coupes comme nous l'avons fait jusqu'ici, adressons-nous à des frottis obtenus par dilacération de l'intestin de l'Annélide; les choses changent un peu d'aspect. Le jeune parasite soustrait à l'influence de pressions inégales prend une forme plus régulière. Il est d'abord sensiblement sphérique et c'est seulement lorsque sa croissance est suffisamment avancée, que, libéré dans les

frottis, il demeure oviforme (Pl. IX fig. 7—9). Dès le plus jeune âge, on aperçoit en un point que l'on peut dès leurs désigner, non pas sous le nom d'extrémité „céphalique" comme le fait MINGAZZINI, mais sous celui plus rationnel de pôle antérieur, une différenciation cytoplasmique se manifestant par une opacité plus grande et des alignements rayonnants de granules. C'est la première apparition de l'appareil fixateur de l'adulte. Il semble d'ailleurs que cet appareil soit chez les individus les plus jeunes déjà entièrement développé, prêt à fonctionner. Sur un très jeune stade (Pl. IX fig. 7) s'érige un petit cône terminé par une minuscule sphérule, simple diminutif du bouton adhésif des individus libres. Cette apparition précoce de l'appareil de fixation n'a d'ailleurs rien qui doive surprendre, au moins quant à l'observation du fait en lui-même. Il n'a rien d'exceptionnel. SIEDLECKI (1901, 1901 a) ne nous dit-il pas que chez *Lankesteria ascidiæ* le sporozoïte après sa pénétration dans la cellule-hôte bientôt se transforme en une petite Grégarine qui, dès les stades les plus jeunes, a les caractères de l'adulte, et l'on sait que *Lankesteria ascidiæ* présente alors un petit bouton évaginable tout-à-fait comparable comme structure à celui de *Doliocystis elongata* et, en particulier servant, comme lui à la fixation du parasite sur l'épithélium. Les Sténophorides des Myriapodes dans leurs stades intra-cellulaires développent aussi une sorte de petite ventouse antérieure (LÉGER et DUBOSCQ 1904) mais celle-ci est de constitution tout autre et ne sert pas ultérieurement à la fixation; les Sténophorides sont d'ailleurs des Grégarines qui n'ont de commun avec *Lankesteria ascidiæ* et *Doliocystis elongata* qu'une phase intra-epithéliale à l'origine du développement.

La croissance intra-épithéliale terminée, la portion d'épithélium qui surmonte la Grégarine éclate et celle-ci, ai-je dit, tombe dans la cavité digestive. Elle se fixe de suite à sa paroi. Son corps se rétrécit et s'allonge pour revêtir l'aspect que MINGAZZINI attribue à la deuxième catégorie des jeunes individus. Ceux-ci, on le voit, ne constituent pas autre chose que des stades plus avancés des premiers. De ces derniers d'ailleurs MINGAZZINI ne paraît avoir vu que des individus de dimensions relativement considérables. L'auteur italien ne donne pas les grossissement auxquels ont été effectués ses dessins, il se contente de mentionner les combinaisons optiques employées dans ses observations. C'est tout-à-fait insuffisant au point de vue absolu. On peut cependant par comparaison en déduire quelques chiffres. L'individu piriforme le plus jeune (fig. 1) est dessiné au même grossissement qu'un adulte (fig. 35). Or ceux-ci ont environ

500 μ; des mesures effectuées sur la planche même du mémoire de Mingazzini permettent de conclure que le plus jeune individu figuré atteignait environ 75 μ, ce que nous avons vu être un maximum pour les stades intra-épithéliaux.

La transformation des individus ovoïdes en individus cylindriques paraît se faire très rapidement, les formes de passage (Pl. IX fig. 10—11) sont peu abondantes. La Grégarine libre acquiert de suite sous une longueur réduite, les caractères définitifs. Elle n'a plus qu'à s'accroître principalement en longueur pour devenir adulte.

Adulte, *Doliocystis elongata* est une Grégarine allongée, cylindrique pouvant atteindre jusqu'à 500 μ en longueur, par conséquent visible à l'œil nu. Sa largeur pour une telle longueur, sensiblement uniforme d'une extrémité à l'autre, est d'environ 40 μ. L'extrémité postérieure est régulièrement arrondie; l'extrémité antérieure, séparée du reste du corps par une sorte de col plus étroit, prend souvent l'apparence d'une tête globuleuse (Pl. VII fig. 1; Pl. IX fig. 13). Lorsque la Grégarine est totalement libre, c'est-à-dire lorsqu'elle est détachée de l'épithélium, l'extrémité antérieure montre une petite crypte terminale (Pl. VIII fig. 1 et 2) qui peut se dévaginer au dehors et faire saillir un petit bouton sphérique dont Mingazzini a correctement représenté deux aspects dans les figures 32 et 35 de son mémoire. Cet appareil en s'appliquant sur l'épithélium puis en se rétractant, agit comme une ventouse et fixe fortement la Grégarine. Le cytoplasme condensé au portour se colore vivement, il forme là une région éminemment sidérophile (Pl. IX fig. 6). Cette particularité a été déjà signalée ou représentée ailleurs, pour *Lankesteria ascidiæ* (Lank.) par Siedlecki (1901 *a*), pour *Doliocystis pellucida* (Köll.) par Brasil (1904), pour *Anchora sagitata* (Leuck.) par Cecconi (1905).

Doliocystis elongata est peu mobile, ses mouvements sont lents. Ils sont de deux sortes, les mouvements de déformation du corps et les mouvements de déplacement d'ensemble.

Le corps peut s'incurver dans tous les sens. Il est quelquefois parcouru par un mouvement ondulatoire très lent dont l'onde est de faible longueur (Pl. VII fig. 3). J'ai observé un pareil mouvement, qui n'entraîne pas le déplacement de la Grégarine, chez tous les *Doliocystis* à corps allongé. La région antérieure est la plus plastique. Elle peut s'étirer en cône ou se condenser en tête globuleuse en même temps que le col disparaît ou s'exagère. Parfois chez les individus libres le bouton terminal ordinairement invaginé, s'érige et se rétracte rythmiquement pendant un assez long temps.

Comme mouvement d'ensemble, *Doliocystis elongata* ne présente que cette translation lente semblable à un glissement, bien connue chez les Grégarines. Elle se fait comme d'ordinaire l'extrémité antérieure en avant.

Les mouvements de déformation sont déterminés sans aucun doute par l'action de myonèmes circulaires qui encerclent la Grégarine et qui sont précisément plus particulièrement développés sur la région antérieure la plus plastique. Ces myonèmes sont circulaires, comme ceux de beaucoup d'autres Grégarines. Ils ne s'anastomosent jamais les uns avec les autres (Pl. VII fig. 1).

Doliocystis elongata constitue un excellent matériel pour la démonstration de la structure fine des Grégarines. L'épicyte se laisse facilement décomposer en un certain nombre d'assises très apparentes (Pl. VIII fig. 1—2). Au-dessous d'une très mince pellicule hyaline se montre la cuticule relativement épaisse sans pores et sans plissements. Celle-ci surmonte l'ectoplasme d'épaisseur plus considérable, dans la profondeur duquel alternent les myonèmes et des anneaux à section ovale d'une substance d'aspect particulièrement hyalin. Les myonèmes de section demi-circulaire reposent par leur face plate sur l'endoplasme; ils font ainsi saillie de toute leur épaisseur dans l'ectoplasme. Cette structure de la zone périphérique de *Doliocystis elongata* diffère un peu du schéma donné par SCHEWIAKOFF (1894) et qui est devenu classique. Il s'agit, il est vrai, de Grégarines très différentes, *Doliocystis* et *Gregarina*. Il suffirait aussi que dans la première j'appelle couche gélatineuse ce que j'ai donné comme ectoplasme, ectoplasme la substance hyaline alternant avec les myonèmes, pour rendre les différences moins criardes. Je ne le fais pas parce que là où les myonèmes sont peu développés, la substance hyaline intercalée l'est moins encore, au point de paraître totalement absente, l'assise dénommée ici ectoplasme entre alors en contact direct avec l'endoplasme.

Tout ceci, cuticule et ectoplasme, forme à la surface de la Grégarine un revêtement épais, continu, sauf cependant en un point: la cuticule disparaît sur toute la portion invaginable de l'extrémité antérieure. Là le cytoplasme paraît pouvoir entrer en communication directe avec l'extérieur et ce point par lequel précisément la Grégarine se fixe sur l'épithélium doit, en dehors de ce rôle d'appui, servir à l'incorporation des substances nutritives puisées dans les tissus de l'hôte. Il est à remarquer que les stades intra-épithéliaux sont totalement dépourvus de revêtement épais, le cytoplasme est simplement limité par une mince pellicule périphérique permettant des échanges

faciles par tous les points de la surface de corps. Pour *Lankesteria ascidiæ*, SIEDLECKI (1901 a) a signalé l'épuisement de la cellule épithéliale sur laquelle est fixé le parasite. Il semble bien que dans ce cas aussi l'appareil fixateur ait un rôle nutritif. Ce n'est pas l'avis de CECCONI (1905), plus particulièrement pour *Anchora sagittata* qu'il a étudiée et chez laquelle la vésicule terminale est seulement un organe d'adhésion. Ajoutons que l'appareil antérieur peut être encore considéré comme un organe de tact.

L'endoplasme de *Doliocystis elongata* adulte apparaît comme un reticulum serré dont les mailles sont formées d'une multitude de fins granules. De place en place et assez régulièrement espacées les unes des autres, de petites masses chromophiles de formes variées peuvent être considérées comme résultant de l'activite cellulaire. Il n'a pas été possible de leur reconnaître une origine nucléaire, ceci conforme aux observations de COMES (1907).

Toute la région antérieure présente une structure remarquable. Sous l'appareil terminal le cytoplasme n'est plus réticulé. Il montre des alignements très nombreux, très serrés de grains minuscules venant tous converger sur le fond et les parois de la crypte invaginable. L'ensemble de ces alignements forme une masse globuleuse, isolée du reste du cytoplasme, aussi apparente sur les individus en vie, que sur ceux qui ont été fixés et colorés. Sur les individus en vie, cette masse paraît plus transparente que les autres régions et les alignements de granules s'y montrent sous la forme de fines stries rayonnantes. C'est bien vraisemblablement à cette disposition fibrilloïde du cytoplasme sous-jacent que la Grégarine doit la possibilité d'ériger et de rétracter son appareil terminal. On rapprochera cette structure de l'extrémité antérieure de *Doliocystis elongata* de ce que SIEDLECKI (1899) a décrit à la même place chez *Lankesteria ascidiæ*.

MINGAZZINI a signalé et figuré un individu présentant dans la région antérieure, en avant du noyau, un septum analogue en apparence à celui des Polycystidées. Si on veut bien remarquer que MINGAZZINI n'a vu la chose qu'une seule fois, que sur les centaines de *Doliocystis elongata* passés sous nos yeux aucun n'offrait semblable disposition, on considérera le fait comme purement accidentel et par conséquent comme sans la moindre importance systématique.

Le noyau est une grosse vésicule ovoïde, parfois sphérique, située chez les individus bien adultes dans le quart antérieur du corps. En dehors de cela, je n'ai rien à ajouter à ce que j'ai dit plus haut du noyau, si ce n'est cependant que les caryosomes très

variables de dimensions peuvent augmenter sensiblement de nombre. J'en ai pu compter jusqu'à sept dans un même noyau, tous appliqués contre la membrane.

Aucun stade de reproduction, quel qu'il soit n'a été rencontré, en particulier les *Doliocystis* intra-épithéliaux n'ont jamais montré de phénomènes pouvant être interprétés comme des stades de schizogonie.

Il n'est pas nécessaire d'insister sur la ressemblance qui existe entre *Doliocystis elongata* et *Lankesteria ascidiæ* aussi bien dans la structure que dans la mode de développement. La multiplication sexuée est sans doute très comparable, en ce sens qu'elle doit se comporter chez la Grégarine de *Lumbriconereis* suivant le schéma général propre à toutes les Eugrégarines. Si l'on en juge par ce qu'on sait pour *Doliocystis pellucida* Köll. (= *Doliocystis nereidis* Léger) et pour *Doliocystis Legeri* n. sp. (voir plus loin), le sporocyste doit être simplement ovoïde comme celui de *Lankesteria ascidiæ*. Les deux Grégarines, on le voit, paraissent être très voisines et il semble évident qu'elles doivent être rangées dans la même famille. L'état actuel de la classification ne le permet cependant pas, *Lankesteria* est, en effet, considérée comme une Monocystidée (*Acephalina*), *Doliocystis* comme une Dicystidée (*Cephalina*).

Sur la valeur de ce classement de *Doliocystis* parmi les *Cephalina*, j'ai récemment émis un avis — Brasil (1908) —, mais comme là où il a paru, la place m'était mesurée, je n'ai voulu mettre en ligne que des arguments décisifs, laissant délibérément de côté ceux qu'une discussion écourtée aurait laissés trop contestables. Je reviens aujourd'hui sur la question.

Doliocystis a été établi par Léger (1893) pour des Grégarines intestinales d'Annélides polychètes, caractérisées par l'absence de septum et, chez les jeunes individus fixés sur l'intestin, par la présence d'un épimérite intracellulaire que le parasite abandonne dans sa libération. Cet épimérite caduc est réduit à l'état d'un simple petit bouton chez *Doliocystis nereidis*. Chez *Doliocystis polydoræ*, c'est un tronc de cône à petite base inférieure; dans la chute qui s'observe facilement sous le microscope, il se produit une large blessure par laquelle s'écoulent les grains de l'entocyte, mais la plaie se cicatrise promptement.

J'ai indiqué les raisons qui me font penser que le *Doliocystis nereidis* de Léger n'est autre chose que *Doliocystis pellucida* (Köll.) et j'ai déjà dit que cette dernière Grégarine ne possède pas d'épimérite

caduc, mais un appareil permanent, invaginable, de la même catégorie que ceux de *Doliocystis elongata* ou de *Lankesteria ascidiæ*.

Je ne connais pas avec certitude *Doliocystis polydoræ* Léger et je ne peux être aussi affirmatif à son égard. Je me permettrai cependant de faire remarquer que l'épimérite „en tronc de cône à petite base inférieure" de cette Grégarine ressemble singulièrement à ce que Siedlecki (1901 a, fig. V p. 95) dessine pour *Lankesteria ascidiæ*. D'autre part, la rupture de l'épimérite, observée sous le microscope, avec la grave lésion qu'elle provoque me paraît d'ordre plutôt accidentel que normal. J'ai montré — Brasil (1904) — combien solidement *Doliocystis pellucida* s'attache à l'épithélium de l'hôte, quelle traction le parasite exerce pour se libérer. Une Grégarine ainsi fixée, soumise à des manipulations qui sont forcément brutales pour un organisme aussi délicat, doit, il me semble, plutôt se briser que d'abandonner son support, et, s'il y a rupture, ne sera-ce pas précisément en ce point de faible résistance que constitue la base rétrecie de l'appendice adhérent, sur lequel, ce n'est pas téméraire de le supposer, la cuticule renforçatrice ne se prologe peut-être pas. Dans des conditions plus normales, la Grégarine détache-t-elle encore son appareil de fixation? Léger l'a cru. Il n'est pas possible dans la circonstance de mettre en doute son observation, mais il est désirable que la Grégarine soit de nouveau examinée au point de vue spécial qui nous occupe en ce moment, et cela à la lumière des connaissances acquises dans ces dernières années. Dois-je rappeler que Caullery et Mesnil (1899) ont cru à l'existence d'un épimérite caduc chez les *Selenidium* jusqu'à ce que de nouvelles observations les fissent changer de manière de voir (Mesnil 1907) et reconnaître à ces Grégarines précisément une petite pointe invaginable.

Labbé (1899) et Minchin (1903) ont rangé dans le genre *Doliocystis* une Grégarine décrite anciennement par Lankester (1863) et qui figure dans la plupart des traités classiques à cause de son épimérite même. J'ai vainement cherché ce *Doliocystis*(?) *aphroditæ* qui n'a d'ailleurs jamais été, je crois, observé à nouveau. Il ne me paraît pas impossible qu'avec ses stries longitudinales, cette Grégarine appartînt à un tout autre genre; elle n'est pas suffisamment connue pour qu'il y ait intérêt à discuter son cas.

J'arrive maintenant aux formes les plus troublantes. „Il existe, je crois, dit Mesnil (1907) chez toutes les Annélides de la famille des Spionidiens, des Grégarines aplaties, à contour ovoïde, qui sont de vraies Dicystidées. J'ai étudié en particulier une espèce parasite

de *Scolelepis fuliginosa*, à épimérite caduc, qui envoie *dans* la cellule épithéliale une couronne de prolongements, parfois ramifiés, sans doute amiboïdes.“ Sont-ce là des *Doliocystis*? Fort probablement car, autant que le permet la brièveté de la description, ces Grégarines me semblent appartenir au même groupe que *Doliocystis Legeri* étudié ci-après et qui plonge dans la cellule support un filament rhizoïde (Pl. VIII fig. 4), émané d'un appareil de fixation pour le reste absolument semblable à celui de *Doliocystis elongata*. Mais ce filament rhizoïde n'est pas caduc, c'est une sorte de pseudopode amiboïde rétractile; cela se constate, sinon facilement, du moins d'une façon suffisante sur les individus libres; on les voit en effet parfois émettre de leur bouton terminal, pour le rétracter ensuite, un prolongement fin comme un cil; ce prolongement représente sans nul doute le filament rhizoïde intracellulaire qu'on retrouve dans les coupes favorables.

Est-ce là un épimérite? Et doit-on dire qu'une Grégarine pourvue d'un tel appendice est une Grégarine dicystidée? Tout cela dépend de la signification qu'on donne à ces termes et je dois dire qu'en général elle paraît assez imprécise. Comme je l'ai déjà fait remarquer dans un cas particulier, ces appendices antérieurs invaginables des diverses Grégarines que nous venons de passer en revue sont bien différents des épimérites de forme constante ou très peu modifiable des Grégarines intestinales des Arthropodes, et il ne me semble pas qu'il soit justifié d'identifier — et on le fait en le désignant par la même terme — des formations qui ne sont qu'équivalentes.[1])

Il résulte pour moi de ce qui précède qu'un remaniement de la diagnose du genre *Doliocystis* est indispensable. On poura dire à

[1]) Parmi les Grégarines des Annélides polychètes il existe d'ailleurs, au moins une forme pourvue d'un épimérite typique. C'est *Sycia inopinata* Léger. Cette Grégarine est extrémement commune dans l'intestin des *Audouinia tentaculata* de notre littoral. Il est facile d'en suivre le développement que du reste Léger (1892) a representé. J'ai retrouvé tous les stades à l'exception du stade initial intracellulaire qui n'existe pas au moins comme Léger le décrit. Tous les stades de croissance sont fixés sur l'épithélium de l'hôte par l'intermédiaire d'un gros épimérite sphérique qui s'enfonce dans la cellule-support et qui n'est pas susceptible de modifications de forme. La Grégarine adulte se libère en se séparant de cet épimérite. Entièrement dépourvue alors d'organe d'adhésion, elle est incapable de se fixer à nouveau. — *Ancora sagittata* Leuck. serait également pourvu d'un véritable épimérite, bien que Cecconi (1905) rapproche l'appareil de fixation de cette Grégarine de celui de *Lankesteria ascidiæ*. Il en différerait cependant, d'après les observations mêmes de Cecconi en ce qu'il pénètre dans des anfractuosités du plateau cellulaire, en ce qu'il est recouvert par la cuticule qui se prolonge sur sa surface, en ce qu'il est caduc.

l'avenir qu'il comprend des Eugrégarines à un seul segment, pourvues d'un appareil de fixation plastique et invaginable, mais ne pouvant prendre pour chaque espèce qu'un ensemble de formes bien déterminées. cupule, bouton, filament, etc.; myonèmes circulaires développés: autant qu'on peut généraliser le fait avec nos connaissances actuelles, le sporocyste est ovalaire avec un épaississement pariétal à un pôle. Habitat intestinal.

Lankesteria, avec *Lankesteria ascidiæ* Lank. comme type se place dans le voisinage immédiat de *Doliocystis*.

Comme l'a bien pressenti Cunningham, *Kalpidorhynchus* est également très proche. C'est une forme de passage entre *Doliocystis* et le groupe *Gonospora*, *Urospora*, *Lithocystis*, *Cystobia* etc. Comme ces dernières Grégarines, il est coelomique, mais il a conservé l'appareil fixateur de *Doliocystis*. Si son sporocyste a bien encore l'épaississement pariétal unipolaire de *Doliocystis* — et cet épaississement s'exagère chez *Cystobia*, *Urospora*, *Lithocystis*, etc., il possède de plus à son autre extrémité sous la forme d'un simple entonnoir l'ornementation développée à divers degrés au même pôle sur le sporocyste de *Cystobia*, de *Gonospora*, d'*Urospora*, etc. Et ainsi que je l'ai dit ailleurs (1908) le passage entre les *Doliocystis* sans phase de croissance intra-épithéliale et les Monocystidées les plus différenciées telles que *Gonospora*, *Urospora*, etc., est jalonné d'abord per les *Doliocystis* à stades intra-épithéliaux avec appareil de fixation précoce (*Doliocystis elongata*), puis par les formes coelomiques à appareil de fixation comme *Kalpidorhynchus*.

On peut résumer ce qui précède en rangeant les Grégarines dont il vient d'être question, dans trois familles voisines placées sans intercalations ainsi qu'il suit:

Fam. ***Doliocystidae*** Labbé { *Doliocystis* Léger. / *Lankesteria* Ming.

Fam. ***Kalpidorhynchidæ*** Cunn. *Kalpidorhynchus* Cunn.

Fam. ***Gonosporidæ*** Léger { *Gonospora* Schneid. / *Diplodina* Woodc. / *Cystobia* Ming. / *Urospora* Schneid. / *Lithocystis* Giard. / *Ceratospora* Léger / etc.

Je réunis ici, on le voit, dans une seule famille des Grégarines réparties habituellement, les unes dans les ***Gonosporidæ***, les

autres dans les ***Urosporidæ,*** d'après le degré d'étirement de l'épispore à l'un de ses pôles. Un caractère d'aussi minime importance paraît insuffisant pour éloigner des formes que tout ailleurs réunit. C'est ainsi que par l'exclusive considération de ce caractère, Woodcock (1906) a été amené à placer dans des familles différentes *Diplodina* qu'il rapproche de *Gonospora* et *Cystobia* qu'il range avec *Urospora,* ces deux genres étant cependant à ce point voisins par l'évolution des espèces qui les constituent, qu'il semblerait plus naturel, si une coupe doit être faite, de les réunir dans une famille ***Cystobiidæ,*** distincte du reste des ***Gonosporidæ.*** De son côté d'ailleurs, Dogiel (1906) considère l'opportunité de fusionner en un genre unique *Cystobia, Urospora* en *Lithocystis.*

Doliocystis Legeri n. sp.

Pl. VII fig. 4; Pl. VIII fig. 4—5.

Parmi les nombreux *Doliocystis* encore indeterminés que l'on rencontre dans l'intestin des Annélides polychètes, je décris particulièrement celui-ci à cause de la disposition déjà signalée ci-dessus de son organe d'adhésion et aussi parce qu'il a laissé entrevoir quelques points de sa reproduction sexuée.

C'est à Luc-sur-mer un parasite rare de *Glycera convoluta* Kef. Aucun stade intra-épithélial n'a été rencontré. Des formes adultes piquées sur l'épithélium ou libres dans la cavité digestive et quelques kystes ont seuls été observés.

Dans sa forme générale *Doliocystis Legeri* rappelle beaucoup *Doliocystis elongata:* c'est également une Grégarine cylindrique, mais beaucoup moins allongée. Elle ne paraît pas dépasser 100 μ en longueur, le diamètre d'une section transversale étant pour cette dimension d'environ 25 μ. Le noyau est ovale avec son grand axe orienté dans le même sens que celui de la Grégarine. Il est à peu près au milieu de la longueur du corps. Un gros caryosome sphérique flottant y est inclus (Pl. VI fig. 4).

L'appareil de fixation est construit sur le même plan que celui de *Doliocystis elongata;* il possède en plus un fin filament rhizoïde qui pénètre assez avant dans la cellule support, celle-ci manifestant simplement par l'atrophie de son corps sans que le noyau subisse de modification apparente, le trouble que lui causent cette introduction d'un élément étranger et les emprunts vaisemblables faits à sa substance ou à ses réserves.

Ce filament rhizoïde s'observe très facilement sur les préparations colorées. Il est fortement sidérophile. Les Grégarines vivantes et libres le font parfois saillir de leur extrémité anterieure, d'où j'ai conclu qu'il n'est pas caduc (voir ci-dessus, p. 121).

On doit sans doute rapprocher de *Doliocystis Mesnili* les Grégarines de Spionidiens que signale Mesnil (1908) et qui introduisent dans la cellule-support un bouquet de tels filaments rhizoïdes. Peut-être faut-il aussi en rapprocher cette Grégarine intestinale de *Rhyncobolus americanus* Verill que Porter (1897) a décrite comme une Tricystidée et que Crawley (1903) a rapporté plus tard au genre *Doliocystis* sous le nom de *Doliocystis rhyncoboli* Crawl. Toute la région antérieure que Porter considérait comme un protomérite, que Crawley réunit à l'épimérite styloïde ressemble, autant qu'on peut en juger par la description et les figures de Porter, à la région antérieure finement granuleuse de *Doliocystis elongata*. Elle ne paraît pas être séparée du reste du corps par une barrière ectoplasmique; il est d'ailleurs difficile faute d'indication dans le texte de se rendre compte de la nature de sa limité postérieure.

Tous les kystes observés — une douzaine environ — ont été rencontrés dans la même Annélide. A l'exception de l'un qui contenait des sporocystes mûrs, tous étaient à la même phase du développement, phase relativement précoce. Ces kystes sont très petits. Léger (1893) a déjà signalé l'exiguïté des kystes chez un *Doliocystis*. Les nôtres ont 45 μ de diamètre environ.

Les kystes non mûrs montrent tous les deux Grégarines accouplées très distinctes l'une de l'autre. Chacune est à un stade assez avancé de la multiplication nucléaire, et fait constant pour tous les kystes examinés, dans chacun l'une des Grégarines contient des noyaux relativement gros, l'autre de très petits noyaux entièrement colorés par la laque ferrique dans les préparations traitées par la méthode de Heidenhain. La forme en larme de ces noyaux permet de supposer que chacun d'eux s'annexe un appareil centrosomien conique qu'une coloration trop massive ne permet pas de distinguer (Pl. VIII fig. 4—5). Dans les kystes de *Kalpidorhynchus*, Cunningham (1907) observe également des noyaux piriformes, mais il se déclare incapable de les décomposer, comme je l'ai fait dans mes travaux antérieurs — Brasil (1905, 1905 a) — en un noyau sphérique surmonté d'un appareil centrosomien conique avec un centriole au sommet, et ne peut en conséquence confirmer dit-il mes observations. L'existence de centrosomes et de centrioles chez les Grégarines et, en général dans la disposition même où j'ai vu et dessiné ces éléments

chez plusieurs Monocystidées est une chose à l'heure actuelle incontestable, qui n'a plus besoin d'être confirmée; il serait superflu de citer les nombreux travaux récents qui l'établissent. D'ailleurs, à cet égard, mes préparations ne laissent aucun doute, ce n'est pas une interprétation que j'ai donnée mais la description et la représentation d'un fait indubitable. N'ayant pas vu les noyaux piriformes de *Kalpidorhynchus*[1]) je ne peux rien affirmer sur leur compte mais je ne serais pas surpris qu'une méthode appropriée permît la décomposition que CUNNINGHAM ne fait pas.

Du fait que les kystes de *Doliocystis Legeri* qui ont pu être examinés montrent un dimorphisme nucléaire régulier, faut-il conclure à l'anisogamie certaine? Ce serait téméraire. Ce dimorphisme peut être simplement dû au retard d'une Grégarine sur l'autre, tout se regularisant à la fin du développement des gamètes. Le dichronisme serait alors la règle, la totalité des kystes observés en présentant, en effet, l'image. CUNNINGHAM a vu quelque chose de semblable chez *Kalpidorhynchus;* là les deux gamétocytes d'un kyste ne sont jamais dit-il au même stade de développement, le fait s'exprimant également par un certain dimorphisme nucléaire, mais, d'autre part, CUNNINGHAM n'a pu relever aucune difference entre les noyaux des deux gamètes copulant.

Le kyste mûr qui a été rencontré renfermait une grande quantité de sporocystes ovolaires avec l'épispore légérement épaissie à l'un des pôles. Ces sporocystes sont de dimensions très réduites comme LÉGER (1893) l'a également observé pour *Doliocystis pellucida* (KÖLL.). Chacun d'eux contenait huit sporozoïtes virguliformes qui, mis en liberté par écrasement du sporocyste, se contorsionnaient en tous sens.

Angeiocystis Audouiniæ BRASIL.

Pl. X fig. 1—27.

1904 *Angeiocystis Audouiniæ* BRASIL: *Sur une Coccidie nouvelle parasite d'un Cirratulien.* C. R. Acad. Sci. Paris T. 139 p. 645.

Jusqu'au moment ou SIEDLECKI (1902) décrivit *Caryotropha Mesnilii,* parasite dans les paquets de Spermatogonies de *Polymnia nebulosa,* la présence possible de Coccidies dans les tissus d'Annélides polychètes n'avait pas été établie d'une façon certaine; CAULLERY et

[1]) FAUVEL (1899) dans sa monographie d'*Arenicola ecaudata* a signalé l'existence d'une Grégarine cœlomique chez cette Annélide. Est-ce *Kalpidorhynchus?*

Mesnil (1897, 1900) avaient bien signalé leur découverte, mais pour déclarer bientôt après (1901) que les formes uninucléées et les barillets attribués tout d'abord à des Coccidies, appartenaient peut-être à des Protistes différents, intermédiaires entre les Coccidies et les Grégarines.[1])

La rencontre d'*Angeiocystis Audouiniæ* dans le corps cardiaque d'*Audouinia tentaculata* Mont. est venu porter à deux le nombre des Coccidies parasites de Polychètes.

En 1903, l'année où cette Coccidie fut aperçue pour la première fois, en 1904 où sa description sommaire parut, le parasite était extrêmement abondant à Luc. Chaque *Audouinia* en contenait un grand nombre. Puis il disparut. Il me fut impossible alors de trouver une Annélide parasitée dans le voisinage du Laboratoire. Depuis, malgré des tentatives répétées, je n'ai pas revu la Coccidie. J'avais heureusement recueilli en temps opportun un matériel considérable, mais par contre les observations sur le vivant furent insuffisantes. J'attendais d'avoir pu les compléter pour publier in extenso le cycle évolutif du Sporozoaire. Les années passent sans que les conditions redeviennent favorables, je me résous donc à faire connaître ce que j'ai vu, quitte à publier plus tard un complément s'il est possible et s'il est utile.

Tout ce que je sais de l'évolution d'*Angeiocystis Audouiniæ* se passe dans le corps cardiaque de l'*Audouinia*, dans l'extrémité tout-à-fait antérieure du vaisseau dorsal de l'Annélide. Le parasite est plongé en plein tissu, subissant l'assaut continuel des amœbocytes qui pullulent là. Bien des individus succombent et cela à tous les âges. Leur défaite se manifeste d'abord par la dégénerescence. Elle est achevée par l'englobement de leurs débris.

Le trophozoïte.

Adulte c'est un grand et robuste corps légèrement incurvé dans sa longueur, avec les extrémités arrondies. La section est circulaire et de diamètre constant, sauf aux extrémités bien entendu. Il est limité par une mince pellicule, simple condensation superficielle du cytoplasme (Pl. X fig. 1).

[1]) Sans arguments nouveaux à l'appui, Cecconi (1905) qualifie de „Coccides" les parasites intra-épithéliaux signalés par Caullery et Mesnil (1897) chez *Capitella capitata* et déjà entrevus par Fischer (1884) qui méconnut leur nature.

Le corps est constitué par la juxtapposition de grosses alvéoles gonflées de substance hyaline et dont les parois tont incrustées à des degrés divers de grains sidérophiles. Chez certains individus un corpuscule réfringent occupe le centre de chaque alvéole. L'une des extrémités est occupée par une grosse masse homogène, hyaline sur le vivant, fortement colorée sur les préparations soumises à la teinture; cette masse envoie des prolongements entre les alvéoles les plus rapprochées; elle est surmontée d'une calotte terminale de sphérules basophiles abandonnant le fer moins facilement même que la chromatine nucléaire.

Le noyau est à peu près médian. C'est une grosse vésicule ovoïde sans orientation définie constante, souvent transversale, avec un gros caryosome sphérique baignant dans une masse légèrement granuleuse après fixation.

Les trophozoïtes les plus grands peuvent atteindre 65 μ dans leur longueur. Le diamètre de la section transversale est très variable pour une même longueur. Cela tient à l'existence d'individus montrant tous les intermédiaires entre des extrêmes relativement grêles ou renflés, la structure restant d'ailleurs indépendante des proportions du corps. D'un autre côté, l'observation établit que les trophozoïtes dont les alvéoles sont dépourvues de grain central, caractère qui s'allie semble-t-il à un moindre emmagasinement de matériel sidérophile dans la paroi, n'atteignent jamais d'aussi grandes dimensions que les autres. On pourrait penser que ces individus plus petits et d'une richesse inférieure en enclaves sont simplement plus jeunes, à un degré d'évolution moins avancé, et qu'ils deviendront dans la suite semblables aux grands. Je n'en crois rien. Des individus de même taille, et même des individus de longueur bien inférieure se montrent en effet aussi pourvus de grains que les plus grands. L'explication est toute autre. Les trophozoïtes les moins riches en inclusions, en réserves cytoplasmiques se transformeront en microgamétocytes, les autres en macrogamétocytes.

A côté des deux catégories de trophozoïtes adultes, se placent les jeunes. J'en ai figuré deux.

Le moins avancé (Pl. X fig. 2—3) a 15 μ sur 3 μ 5. Sa forme est assez différente de celle de l'adulte. L'une des extrémités est franchement pointue, l'autre est simplement atténuée. Le cytoplasme est déjà alvéolaire et l'extrémité pointue porte l'indication de la masse sombre signalée plus haut. Quelques grains y ont fait leur apparition.

Le noyau n'est pas médian. Il est rejeté vers l'extrémité opposée à l'extrémité pointue. Il est ovale avec son grand axe longitudinal. Un caryosome également ovale et de structure d'aspect homogène ne laisse au-dessous de la membrane nucléaire qu'un espace périphérique relativement mince occupé par des grains sidérophiles. Les corps chromophiles de ce jeune trophozoïte, caryosome, grains nucléaires, grains terminaux sont plus facilement décolorables que les corps similaires des individus plus âgés. Des trophozoïtes de dimensions à peine plus élevées mais par contre à un degré supérieur d'évolution, pris dans la même préparation et dans le voisinage immédiat de celui que nous considérons, ont conservé d'une façon autrement intense la laque ferrique (Pl. X fig. 4).

La forme de ce jeune trophozoïte (Pl. X fig. 2), notablement différente comme on vient de le voir de celle de l'adulte, nous montre sans doute, à peine modifié quant au contour, le sporozoïte ou le schizozoïte dont il dérive.

La figure 4 représente un trophozoïte plus âgé. La longueur est à peu de chose près la même, mais l'aspect général est tout autre, c'est maintenant celui plus robuste de l'adulte. L'extrémité pointue s'est oblitérée, elle est arrondie avec un rayon de courbure supérieur même à celui de l'autre extrémité. La plage sombre a pris plus d'importance. Elle s'étend sur presque le tiers du parasite, englobant quelques alvéoles. Les grains sidérophiles terminaux sont nets, nombreux et fortement colorés.

Le noyau transversal s'est rapproché d'une situation médiane. Le nucléole est composé d'une zone médullaire peu chromophile et d'une zone corticale au contraire très avide de fer. Autour de ce nucléole, le suc nucléaire foncé est encombré de grosses sphérules sidérophiles de diamètre sensiblement uniforme.

Chez les adultes ces sphérules disparaissent et le nucléole est entièrement chromatique.

Schizogonie.

Existe-t-il un schizogonie? En 1904 j'en ai parlé avec un point de doute. J'observe aujourd'hui la même réserve.

Les kystes signalés dans la première note étaient au nombre de deux, ils furent vus sur le vivant dans un frottis. Appartenaient-ils bien au présent parasite, je ne peux l'affirmer, de même que je ne saurais affirmer qu'ils venaient incontestablement du vaisseau dorsal. Ils ont très bien pu être empruntés par la pince avec

un fragment du tissu de l'organe, au tube digestif situé juste au-dessous du vaisseau dorsal. Et, on le sait, l'épithélium intestinal de l'*Audouinia* contient d'une façon constante de nombreux barillets de corps en croissant. Pour ma part, je connais au moins trois catégories de ces barillets intestinaux distinguables les uns des autres par leur situation respective dans l'épithélium, par le nombre et la dimension des éléments.

Par contre j'ai parfois rencontré, très rarement d'ailleurs, aussi bien dans les coupes que dans les frottis du corps cardiaque, de grêles corpuscules que leur noyau caractérise (Pl. X fig. 16), invariablement doté qu'il est de deux caryosomes lenticulaires pariétaux situés aux extrémités du grand axe.

Enfin j'ajoute que dans les coupes du corps cardiaque où j'ai vu le parasite par milliers, je n'ai jamais observé de figures d'ensemble pouvant être considérées comme appartenant indubitablement à une multiplication schizogonique, ou même comme pouvant être interprétées comme telles.

Est-ce à dire qu'il n'y a pas de schizogonie chez *Angeiocystis Audouiniæ*. Le jeune trophozoïte décrit plus haut (Pl. X fig. 2) doit rappeler, ai-je-dit, l'aspect du corpuscule dont il procède. Or le sporozoïte, nous le verrons plus loin, est assez différent (Pl. X fig. 27). Tout ce que l'on peut dire, c'est que s'il y a pour *Angeiocystis Audouiniæ* une multiplication asexuée, le phénomène doit se passer ailleurs que dans le corps cardiaque, soit chez un autre hôte, soit chez l'*Audouinia* elle-même et rien ne prouve que l'une des catégories de barillets intestinaux n'en représente pas précisément un stade.

Les gamétocytes.

Ayant atteint leur plus grand développement, les trophozoïtes se condensent et deviennent sphériques. Ils se transforment en gamétocytes, micro- ou macrogamétocytes, conservant dans chacun des deux cas leur structure cytoplasmique particulière (voir p. 127). Dans la transformation le corps terminal à grains sidérophiles disparaît. Il n'est rien dans le gamétocyte qu'on puisse considérer comme dérivant de ces grains. On voit seulement dans les individus peu évolués une enclave irrégulière foncée presque aussi volumineuse que le noyau mais dépourvue d'inclusions sidérophiles. Cette enclave doit sans doute représenter la masse du corps en question. Son existence est d'ailleurs très éphémère, bientôt on n'en trouve plus aucun vestige.

Le microgamétocyte.

Devenu sphérique, le trophozoïte transformé en microgamétocyte sécrète immédiatement une épaisse membrane kystique. C'est alors une sphère dont le diamètre est d'environ 20 μ.

Le noyau, central ou subcentral en position, n'est d'abord que le noyau non modifié du trophozoïte, mais bientôt apparaît dans sa masse un réseau chargé de grains de chromatine dont l'origine nucléolaire est attestée par la diminution concomitante du volume du nucléole. Ces grains de chromatine sont gros, irréguliers de forme et disposés sans ordre sur le réseau (Pl. X fig. 6). Ainsi le nucléole disparaît complètement, en même temps que la chromatine se pulvérise et fuse au travers de la membrane nucléaire émigrant dans le cytoplasme pour se diriger vers la périphérie du microgamétocyte (Pl. X fig. 8). Dans cette figure qui surprend les fins grains de chromatine dans leur migration centrifuge, ceux-ci forment à la surface du microgamétocyte une couche épaisse reliée encore au reliquat nucléaire par quelques travées uniquement constituées par les retardataires.

Le noyau perd ainsi toute sa chromatine figurée. Ce n'est plus en dernière analyse qu'une masse irrégulière, sans membrane apparente, uniformement acidophile, prenant en particulier avec intensité le mélange d'éosine et d'orange G. Le reliquat nucléaire demeure sans modifications pendant l'édification des microgamètes. L'évolution de ces derniers terminée nous le retrouverons occupant le centre du reliquat cytoplasmique du microgamétocyte (Pl. X fig. 14).

La chromatine émigrée du noyau se rassemble à la périphérie du microgamétocyte en une couche de grains d'abord épaisse, mais qui s'amincit de plus en plus pour ne former en dernier lieu qu'une seule assise continue de grains strictement superficiels. Toute la chromatine est-elle employée à la constitution de cette assise? Evidemment non. Une partie se dissout dans le cytoplasme lui communiquant ses affinités chromatiques. Il est à remarquer, en effet, que le cytoplasme du microgamétocyte retient les colorants nucléaires; il est gris foncé dans les préparations traitées par l'hématoxyline de Heidehhain, d'une teinte beaucoup plus sombre que le cytoplasme du macrogamétocyte.

Cette première phase de l'évolution nucléaire du microgamétocyte est assez conforme au processus que les travaux de Simond (1897), de Schaudinn et Siedlecki (1897), de Siedlecki (1899), de

Schaudinn (1900) ont rendu classique. Il n'est pas sans intérêt de le constater. Dans la sporogonie des *Aggregata* — il semble très probable, il est vrai qu'on doive considérer ces Sporozoaires comme des Grégarines et non pas comme des Coccidies ainsi qu'on l'a fait longtemps en partie, — Moroff (1906, 1908) a décrit des mitoses multipolaires. Il était nécessaire de rechercher maintenant que la découverte de Moroff a éveillé l'attention sur le point, si les Coccidies ne peuvent présenter quelque processus du même genre. J'ai étudié avec le plus grand soin les très nombreuses préparations montrant les premiers états de l'évolution nucléaire du macrogamétocyte, je n'ai rien vu qui put être interprêté comme une mitose multipolaire. Il n'y a, en particulier, aucune trace de centrosomes, d'asters ou de fibres fusoriales.

L'assise chromatique superficielle du microgamétocyte ne reste pas continue. Les grains se rassemblent dans des aires distinctes les unes des autres. Je n'ai pu déterminer exactement le nombre des rassemblements, mais il est petit, 6 ou 8, pas plus. Chaque aire est de grande étendue; son contour est irrégulier, vaguement ovale; les grains de chromatine s'y disposent en un reticulum serré (Pl. X fig. 9). Chacune d'elle représente un noyau secondaire.

Par des divisions successives les noyaux augmentent leur nombre, changeant peu à peu d'aspect. Ils diminuent de volume en même temps que leurs grains grossisent et montrent une concentration plus grande (Pl. X fig. 10). Le mécanisme de la division n'a pu être suffisamment élucidé. Une figure qui est reproduite ici (Pl. X fig. 11) exprime tout ce qu'il a été possible d'en surpendre. Elle consiste en deux amas étoilés de gros grains de chromatine entourant chacun une lacune centrale et reliés entre eux par des cordons variqueux et anastomosés.

La multiplication nucléaire terminée, les noyaux de dernière génération se condensent de plus en plus, chacun d'eux prend l'aspect d'une plaque chromatique denticulée à la périphérie enclavant une ou deux vacuoles (Pl. X fig. 12). Les vacuoles ne sont pas toujours visibles. Leur absence doit être considérée dans ce cas comme apparente et mise sur le compte d'un accident de technique, décoloration insuffisamment poussée pour les préparations au fer.

La concentration de la chromatine s'accentuant, les denticulations marginales disparaissent et l'appareil nucléaire, tout en conservant sa vacuole interne prend la forme définitive d'un croissant au ventre plus ou moins rebondi (Pl. X fig. 13).

Pendant le développement des noyaux le cytoplasme du micro-

gamétocyte a de son côté subi de profondes modifications. Après l'infiltration chromatique signalée plus haut, il se rétracte progressivement en abandonnant la membrane kystique. Ceci a pour résultat de ménager à la périphérie du microgamétocyte un espace libre qui s'agrandit de plus en plus à mesure que le développement des microgamètes avance.

La contraction du cytoplasme influe sur sa structure alvéolaire primitive. Elle devient de moins en moins évidente. A l'exception de quelques points de son territoire, le cytoplasme du microgamétocyte paraît frappé de dégénérescence granuleuse.

Dès que la dernière multiplication nucléaire a pris fin, il s'est isolé autour de chaque noyau définitif une petite masse discoïdale de cytoplasme tranchant par son apparence hyaline sur l'ensemble granuleux du corps coccidien. A la périphérie du disque et l'embrassant de ses pointes s'applique le noyau en croissant (Pl. X fig. 13), disposition très analogue à celle que l'on retrouve dans une figure du dernier mémoire de Siedlecki sur *Caryotropha* (1907, Pl. XIV fig. 24 *d*).

Le petit disque cytoplasmique ne tarde pas à diminuer d'étendue; à ses dépens s'édifient deux cils, c'est tout ce qui en subsiste avec une mince pellicule qu'on devine plutôt qu'on ne voit sur la face concave du croissant nucléaire. Les microgamètes sont alors définitivement constitués.

Ce sont de très petits croissants ventrus dont chaque pointe porte un court cil bien difficile à mettre en évidence (Pl. X fig. 15). Leur masse est entièrement chromatique à l'exception d'une lacune dorsale qui paraît dériver directement de celle dont j'ai signalé la présence à chaque pôle de la figure de division décrite plus haut (Pl. X fig. 11). Les microgamètes sont aplatis; couchés sur le flanc à la surface du reliquat du microgamétocyte, ils y font à peine saillie. Bientôt ils se détachent et, libérés, nagent activement à l'aide de leurs cils dans l'espace périphérique ménagé sous l'enveloppe kystique. Sans les cils, leur plus grande longueur mesurée d'une pointe à l'autre ne dépasse pas 4 μ 5.

La membrane kystique s'est elle aussi transformée au cours de l'évolution du microgamétocyte. Elle devient de moins en moins épaisse, de moins en moins visible à mesure que celle-ci progresse. Au moment de la maturité elle disparaît soit qu'elle se rompe, soit qu'elle achève de se dissoudre. Les microgamètes mis en liberté se répandent dans les cavités du corps cardiaque de l'*Audouinia* s'insinuant dans les lacunes des tissus (Pl. X fig. 7).

Le reliquat du microgamétocyte apparaît à ce moment comme un bloc granuleux irrégulièrement sphérique au centre duquel s'estompe le reliquat nucléaire. L'ensemble est fortement colorable. Peu à peu un hémisphère s'invagine dans l'autre et ainsi prennent naissance ces corps en forme d'outre (Pl. X fig. 7) dont le corps cardiaque des *Audouinia* parasitées montre de si nombreux exemples.

Le macrogamétocyte.

Suivant la règle le macrogamétocyte d'*Angeiocystis Audouiniae* ne donne qu'un seul macrogamète dont la genèse se borne aux transformations qui mettent le noyau femelle en état de se conjuguer avec le noyau d'un microgamète.

Le macrogamétocyte diffère du microgamétocyte par son plus grand volume. Le diamètre d'un macrogamétocyte est d'environ 30 μ. Le cytoplasme a les caractères spéciaux qu'il hérite du trophozoïte dont il dérive: grains interalvéolaires nombreux, corps central dans chaque alvéole.

La membrane kystique est également différente. Elle est apparue dès la transformation du trophozoïte en macrogamétocyte, mais elle est mince et ne doit offrir qu'une faible résistance à la pénétration du microgamète. Il est bon qu'il en soit ainsi car la présence d'un micropyle paraît faire défaut.

La suite complète des phénomènes nucléaires, maturation du macrogamète, fécondation, développement des sporoblastes n'a pas été obtenue. Il y a des lacunes, lacunes assez considérables pour que j'aie eu quelque difficulté à raccorder les stades observés. Je ne suis pas convaincu, je tiens à la dire, de la correction de mon interprétation. Sur les figures qui sont rigoureusement exactes chacun pourra se former une opinion et les disposer, s'il est jugé convenable dans un ordre différent de celui qui est adopté ici.

Dans le noyau du macrogamétocyte, à l'origine celui du trophozoïte, le caryosome se fragmente en un nombre variable de caryosomes secondaires en cédant en même temps de la chromatine au reste du noyau où apparaît un fin réseau chromatique. Puis le noyau s'étire, sa membrane disparaît; on n'a plus qu'un long appareil fusorial dont les extrémités viennent buter sur la surface de la Coccidie (Pl. X fig. 20). La chromatine s'est disposée en une sorte de long spirème délié qui étend ses anses densément et finement grenue sur la surface et d'un bout à l'autre du fuseau. La localisation

exclusive du spirème à la surface du noyau apparaît évidente dans les sections longitudinales et transversales (Pl. X fig. 19—20).

Cet appareil fusorial s'édifie sans adjonction de fibres achromatiques, de centrioles et d'asters. Il est uniquement constitué par de la chromatine. Dans l'espace interne demeurent inemployés les caryosomes. Lorsque les filaments chromatiques superficiels ne s'opposeront plus à leur passage ils seront rejetés dans le cytoplasme et s'y dissoudront. Cet abandon par le noyau d'une partie de son matérial chromatique peut être interprêté comme phénomène de maturation. A partir de ce moment le macrogamète est préparé à recevoir l'imprégnation mâle. Je n'ai pas vu que dans l'attente de la fécondation le noyau du macrogamète revînt à une forme condensée, qu'il se reconstituât en vésicule sphérique. Le fait a pu m'échapper. En tous cas son absence possible et d'autres considérations, d'ailleurs, amènent l'observation suivante. On pourrait être tenté de considérer le long fuseau transversal qui vient d'être décrit comme une image de fécondation; d'après ce que l'on sait d'autres Coccidies, il n'y aurait rien d'impossible a priori à ce que cette figure représentât le mélange des chromatines mâle et femelle. Il pourrait se faire dans ce cas que le long fuseau transversal, fuseau de fécondation comme chez les autres Coccides, fût en même temps fuseau de segmentation et ne se condensât pas alors en un noyau vésiculaire unique. Mais je ne crois pas qu'il en soit ainsi et j'ai réservé à une autre figure la représentation du phénomène intime de la conjugaison.

Quelques macrogamètes, d'ailleurs extrêmement peu nombreux, m'ont montré sous une membrane kystique épaissie, le cytoplasme caractéristique mais de teinte foncée, avec à la périphérie un noyau en mitose. La chromatine est en gros grains disposés asymétriquement en une sorte de masse équatoriale que perfore de part en part un court fuseau dépourvu de centrosomes et d'asters. Dans ce fuseau achromatique une fibre seule se fait remarquer par une tendance marquée à la chromaticité.[1]) Dans les quelques exemples rencontrés, le fuseau est toujours orienté de telle sorte qu'une de ses extrémités vient au contact de la surface de la Coccidie en un point d'ailleurs toujours en retrait. L'autre extrémité est flottante dans le sein du macrogamète (Pl. X fig. 21).

Les raisons qui m'engagent à considérer ces macrogamètes comme étant au stade de la fécondation sont les suivantes: membrane

[1]) Dans le dessin qui représente le fuseau (Pl. X fig. 21) cette fibre chromatique n'est pas assez accentuée.

épaisse, dépression en un point du corps coccidien, coloration foncée du cytoplasme dans les préparations, particularité qu'on retrouve d'ailleurs pendant quelque temps aux stades ultérieurs. J'explique ainsi ces faits: après l'expulsion et la dissolution des nucléoles dans le cytoplasme, le noyau femelle est prêt à subir la fécondation. Un microgamète pénètre dans le macrogamète et par un processus dont l'évolution n'a pas été suivie mais qui aboutit à l'établissement de la figure mitotique décrite, se fait le mélange des chromatines. Aussitôt après la pénétration du microgamète, pénétration dont la dépression observée à la surface du macrogamète reste le témoignage, la membrane kystique s'épaissit considérablement; aux stades décrits antérieurement elle était très mince. C'est la dissolution des nucléoles dans le cytoplasme qui lui communique temporairement propriétés chromatique.

Cette observation d'un noyau en mitose chez une Coccidie est intéressante par sa rareté. Schuberg et Kunze (1906), Kunze (1907) chez *Orcheobius herpobdellae* en ont signalé un autre exemple et la signification de premier fuseau de segmentation indépendant de la fécondation qu'ils lui donnent n'est pas sans m'inquiéter sur l'exactitude de mon interprétation.

Le développement des sporocystes.

La mitose s'allonge répartissant la chromatine en deux amas étoilés, situés aux extrémités d'un même diamètre (Pl. X fig. 22) et que l'on voit, avant qu'ils s'isolent définitivement, réunis par des tractus achromatiques.

Deux noyaux se reconstituent aux dépens de ces amas. Chacun d'eux est un gros ovoïde appliqué à la surface de l'ookyste et dans lequel la chromatine est uniformément répartie en grains tous semblables. Ces noyaux s'étirent en restant accolés à la surface de l'ookyste, ils prennent la forme d'haltères incurvées, chacun s'étendant dans un demi-hémisphère différent. L'étirement se fait dans des plans rectangulaires de telle sorte qu'une coupe contenant la section longitudinale de l'un des noyaux montre en même temps l'autre en section transversale (Pl. X fig. 23). Chacun des noyaux s'étrangle de plus en plus pour finalement se scinder en deux noyaux. A ce moment l'ookyste possède 4 noyaux sensiblement disposés comme les sommets d'un tétraèdre régulier inscrit.

La division nucléaire de l'ookyste ne va pas plus loin, les divisions ultérieures se feront dans les sporocystes. Le cytoplasme de

l'ookyste se fragmente, en effet, en quatre masses qui se condensent respectivement autour de chacun des quatre noyaux formant quatre gros sporoblastes ovoïdes disposés en pyramide. Il n'y a pas de reliquat (Pl. X fig. 24).

Chaque sporoblaste uninucléé sécrète une coque épaisse, difficilement perméable aux réactifs même les plus pénétrants, quatre sporocystes sont ainsi constitués. Ce sont de gros ovoïdes équipolaires longs de 22 μ, larges de 15 μ environ.

La genèse des sporozoïtes est difficile à suivre. L'imperméabilité de la coque des sporocystes rend impossible une fixation suffisante. Dans chacun le noyau se divise un nombre de fois assez grand, mais qui n'a pu être déterminé. Les petits noyaux se disposent tous à la périphérie du cytoplasme et se sont montrés comme de petits corps fusiformes dans lesquels aucune structure n'a pu être mise en évidence (Pl. X fig. 25). En dernier lieu le contenu du sporocyste se divise en un nombre élevé de sporozoïtes, une trentaine au moins, qu'accompagne un reliquat peu important confiné à l'un des pôles (Pl. X fig. 26).

Les sporozoïtes (Pl. X fig. 27) sont de petits corpuscules claviformes, longs de 16 μ, arqués ou plutôt coudés, s'élargissant progressivement d'une extrémité à l'autre, toutes deux arrondies à leur terminaison. Le noyau est dans la moitié étroite à quelque distance de l'extrémité, la coudure se produit exactement au-dessus de lui. Il est rempli de grains chromatiques uniformément disséminés.

Tous les sporozoïtes d'un sporocyste sont rangés côte à côte, dans le même sens en général, c'est-à-dire avec les extrémités nucléées d'un même côté.

Position systématique d'*Angeiocystis audouiniæ*.

Les caractères d'*Angeiocystis audouiniæ* peuvent être résumés comme il suit:

Trophozoïtes en boudins arqués longs de à 45 à 55 μ.

Microgamétocytes sphériques de 20 μ de diamètre environ.

Microgamètes biciliés en forme de croissant renflé et au nombre d'une quarantaine par kyste.

Macrogamétocytes sphériques de 30 μ de diamètre environ se transformant chacun en un seul macrogamète puis en un ookyste de même forme.

Ookystes contenant 4 sporocystes ovoïdes disposés en pyramide.

Sporocystes contenant un grand nombre — une trentaine — de sporozoïtes claviformes longs de 15 μ.

Schizogonie?

Les trophozoïtes et la sporogonie dans le corps cardiaque d'*Audouinia tentaculata* Mont.

Dans la classification qui prend le nombre des sporocystes de l'ookyste comme caractère différentiel fondamental, méthode qu'adopte Minchin (1903) *Angeiocystis* entre, sans doute possible, dans la famille ***Tetrasporocystidæ*** et s'isole des autres genres par le nombre élevé des sporozoïtes d'un sporocyste.

Avec la classification de Léger (1900), développée par Mesnil (1903), le nombre total des sporozoïtes d'un ookyste devient la base du systéme. *Angeiocystis* est alors un ***Polysporocystidea*** et se différencie encore des autres genres du groupe par le nombre élevé des sporozoïtes d'un sporocyste.

Ce nombre élevé des sporozoïtes d'un sporocyste, une trentaine au moins, est d'ailleurs le caractère sûr le plus saillant d'*Angeiocystis*. Par là cette Coccidie ne saurait être rapprochée que de *Klossiella*, si Smith et Johnstone (1902) ont bien interprêté l'évolution de la seule espèce du genre, *Klossiella muris*, où ils voient de trente à trente-quatre sporozoïtes par sporocyste. Mais Lühe (1903) d'une part, Woodcock (1904) de l'autre ont attiré l'attention sur l'analogie remarquable qui existe entre la „sporogonie“ de *Klossiella muris* telle que l'ont figurée Smith et Johnstone et la schizogonie de *Caryotropha mesnili*, de telle sorte qu'il est prudent avant de se servir de *Klossiella* comme terme de comparaison d'en connaître avec certitude le cycle évolutif complet.

Cette réserve admise, *Angeiocystis* s'isole des autres Coccidies par le nombre des sporozoïtes contenus dans chaque sporocyste. *Caryotropha* également parasite d'une annélide polychète, avec ses douze sporozoïtes par sporocyste constituait jusqu'alors un maximum.

(Ce travail a été honoré d'une subvention de l'Association française pour l'Avancement des Sciences.)

Index bibliographique.

1904 Brasil, L.: Contribution à la connaissance de l'appareil digestif des Annélides polychètes. L'épithélium intestinal de la Pectinaire. Arch. Zool. expér. Serie 4 Vol. 2 p. 91.

1904a —: Sur une Coccidie nouvelle, parasite d'un Cirratulien. C. R. Ac. Sci. Paris Vol. 139 p. 645.

1905 —: Recherches sur la reproduction des Grégarines monocystidées. Arch. Zool. expér. Série 4 Vol. 3 p. 17.

1905a —: Nouvelles recherches sur la reproduction des Grégarines monocystidées. Arch. Zool. expér. Série 4 Vol. 4 p. 69.

1907 —: Recherches sur le cycle évolutif des *Selenidiidæ*. I. La schizogonie et la croissance des gamétocytes chez *Selenidium caulleryi*. Arch. f. Protistenk. Bd. VIII p. 370.

1908 —: Le genre *Doliocystis* Léger. C. R. Ac. Sci. Paris Vol. 146 p. 425.

1908a —: La croissance de *Doliocystis elongata* dans l'intestin de Lumbriconereis impatiens Clap. C. R. Soc. Biol. Paris Vol. 64 p. 355.

1899 Caullery, M. et F. Mesnil: Sur quelques parasites internes des Annélides. Trav. Stat. zool. Wimereux Vol. 7 p. 80.

1900 — —: Sur les parasites internes des Annélides polychètes en particulier de celles de la Manche. C. R. Assoc. fr. Avanc. Sci. Boulogne-sur-mer p. 491.

1900a — —: Sur un mode particulier de division nucléaire chez les Grégarines. Arch. Anat. microsc. Vol. 3 p. 146.

1901 — —: Le parasitisme intracellulaire et la multiplication asexuée des Grégarines. C. R. Soc. Biol. Paris Vol. 53 p. 84.

1905 — —: Recherches sur les Haplosporidies. Arch. Zool. expér. Série 4 Vol. 4 p. 101.

1905 Cecconi, J.: Sur l'*Anchorina sagittata* Leuck., parasite de la *Capitella capitata* O. Fabr. Arch. f. Protistenk. Bd. 6 p. 230.

1861 Claparède, E.: Etudes anatomiques sur les Annélides, Turbellariés, Opalines et Grégarines observés dans les Hébrides. Mém. Soc. Phys. et Hist. nat. Genève Vol. 16 p. 158.

1907 Comes, S.: Untersuchungen über den Chromidialapparat der Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 10 p. 416.

1903 Crawley, H.: List of the polycystid Gregarines of the United States. Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia Vol. 55 p. 41.

1907 Cunningham, J. T.: On *Kalpidorhynchus arenicolae* a new Gregarine, parasitic in *Arenicola ecaudata*. Arch. f. Protistenk. Bd. 10 p. 199.

1906 Dogiel, V.: Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. I. *Cystobia chiridotae* nov. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 7 p. 106.

1899 Fauvel, P.: Observations sur l'*Arenicola ecaudata* Johnston. Bull. Soc. Linn. Normandie Série 3 Vol. 2 p. 1.

1884 Fischer, W.: Anatomisch-histologische Untersuchung von *Capitella capitata*. Inaug.-Dissert. Univers. Marburg.

1884 Giard, A.: Sur un nouveau groupe de Protozoaires parasites des Annélides. C. R. Assoc. franç. Avanc. Sci. Blois p. 192.

1907 KUNZE, W.: Über *Orcheobius herpobdellae* SCHUBERG et KUNZE, ein Coccidium aus *Herpobdella atomaria* CAR. (*Nephelis vulgaris* MOQ.-TAND.). Arch. f. Protistenk. Bd. 9 p. 381.

1899 LABBÉ, A.: Sporozoa. Das Tierreich Lief. 5.

1863 LANKESTER, E. RAY: On our present knowledge of the *Gregarinidæ*, with descriptions of three new species belonging to that class. Quart. Journ. microsc. Sci. n. sér. Vol. 3 p. 83.

1892 LÉGER, L.: Recherches sur les Grégarines. Tabl. zool. Vol. 3 p. 1.

1893 —: L'évolution des Grégarines intestinales des Vers marins. C. R. Ac. Sci. Paris Vol. 116 p. 204.

1900 —: Le genre Eimeria et la classification des Coccidies. C. R. Soc. Biol. Paris Vol. 52 p. 576.

1904 LÉGER, L. et O. DUBOSCQ: Nouvelles recherches sur les Grégarines et l'épithélium intestinal des Trachéates. Arch. f. Protistenk. Bd. 4 p. 335.

1903 LÜHE, M.: Die Coccidienliteratur der letzten vier Jahre. Zool. Centralbl. Jahrg. 10 p. 617.

1903 MESNIL, F.: Les travaux récents sur les Coccidies. Bull. Inst. Pasteur Vol. 1 p. 473.

1907 —: Analyse de BRASIL (1907). Bull. Inst. Pasteur Vol. 5 p. 299.

1908 —: Analyse de BRASIL (1908, 1908a) et de CUNNINGHAM (1907). Bull. Inst. Pasteur Vol. 6 p. 439.

1897 MESNIL, F. et M. CAULLERY: Sur trois Sporozoaires parasites de la *Capitella capitata* O. FABR. C. R. Soc. Biol. Paris Vol. 49 p. 1005.

1903 MINCHIN, E. A.: Sporozoa. Treat. on Zool. ed. by E. RAY LANKESTER Part 1 fasc. 2 p. 150.

1893 MINGAZZINI, P.: Contributo alla Conoscenza degli Sporozoi. Ric. Labor. Anat. norm. Univers. Roma Vol. 3 fasc. 1 p. 31.

1906 MOROFF, T.: Sur l'évolution des prétendues Coccidies des Céphalopodes. C. R. Ac. Sci. Paris Vol. 142 p. 652.

1908 —: Die bei den Cephalopoden vorkommenden Aggregataarten als Grundlage einer kritischen Studie über die Physiologie des Zellkernes. Arch. f. Protistenk. Bd. 11 p. 1.

1897 PORTER, J. F.: Two new Gregarinida. Journ. of Morphol. Vol. 14 p. 1.

1900 SCHAUDINN, F.: Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont. Bd. 13 p. 197.

1897 SCHAUDINN, F. et M. SIEDLECKI: Beiträge zur Kenntnis der Coccidien. Verh. d. Deutsch. zool. Ges. 1897 p. 192.

1894 SCHEWIAKOFF, W.: Über die Ursache der fortschreitenden Bewegung der Gregarinen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 58 p. 340.

1906 SCHUBERG, A. et W. KUNZE: Über eine Coccidienart aus dem Hoden von *Nephelis vulgaris* (*Herpobdella atomaria*), *Orcheobius herpobdellae* nov. gen. nov. sp. Verh. d. Deutsch. zool. Ges. 1906 p. 233.

1898 SIEDLECKI, M.: Etude cytologique et cycle évolutif de la Coccidie de la Seiche. Ann. Inst. Pasteur Bd. 12 p. 799.

1899 —: Über die geschlechtliche Vermehrung der Monocystis ascidiae R. LANK. Bull. Ac. Sci. Cracovie 1899 p. 515.

1901 —: Sur les rapports des Grégarines avec l'épithélium intestinal. C. R. Soc. Biol. Paris Vol. 53 p. 81.

1901a Siedlecki, M.,: Contribution à l'étude des changements cellulaires provoqués par les Grégarines. Arch. Anat. microsc. Vol. 4 p. 87.
1902 —: Cycle évolutif de la *Caryotropha Mesnilii*, Coccidie nouvelle des Polymnies. Bull. Ac. Sci. Cracovie 1902 p. 561.
1907 —: Über die Struktur und die Lebensgeschichte von *Caryotropha Mesnilii*. Bull. Ac. Sci. Cracovie 1907 p. 453.
1897 Simond, P. L.: L'évolution des Sporozoaires du genre *Coccidium*. Ann. Inst. Pasteur Vol. 11 p. 545.
1902 Smith, T. et H. P. Johnson: On a Coccidium (*Klossiella muris*, gen. et sp. nov.), parasitic in the renal epithelium of the Mouse. Journ. of exp. Med. Vol. 6 p. 1.
1904 Woodcock, H. M.: Notes on Sporozoa. I. On *Klossiella muris* gen. et spec. nov., Smith and Johnson, 1902. Quart. Journ. microsc. Sci. Vol. 48 p. 153.
1906 —: The life-cycle of "*Cystobia*" *irregularis* (Minch.), together with observations on other "Neogamous" Gregarines. Quart. Journ. microsc. Sci. Vol. 50 p. 1.

Explication des Planches.

Planche VII.

Fig. 1. *Doliocystis elongata* (Mingazzini), d'après un individu adulte vivant. × 500.

Fig. 2. *Selenidium pendula* [Giard], d'après un individu adulte vivant. × 500.

Fig. 3. *Doliocystis elongata* (Mingazzini), d'après un individu adulte vivant pour montrer l'ondulation fréquente du corps. × 250.

Fig. 4. *Doliocystis Legeri* n. sp., d'après un individu adulte vivant. × 550.

Fig. 5. *Doliocystis elongata* (Mingazzini). Jeune stade intestinal dessiné sur le vivant. × 250.

Fig. 6. *Selenidium Mesnili* n. sp. dans l'épithélium intestinal de *Myxicole infundibulum* [Renier]. Formol picro-acéto-alcoolique. Hématoxyline de Heidenhain. × 330.

Fig. 7. *Selenidium Mesnili* n. sp. Section transversale au niveau du noyau. Formol picro-acéto-alcoolique. Hématoxyline de Heidenhain. × 1000.

Fig. 8. *Selenidium Mesnili* n. sp. Section transversale au niveau des corps chromatiques. Formol picro-acéto-alcoolique. Hématoxyline de Heidenhain. × 800.

Planche VIII.

Fig. 1—3. *Doliocystis elongata* (Mingazzini).

Fig. 1. Extrémité antérieure d'un individu adulte, le bouton fixateur invaginé. Sublimé acétique. Hématoxyline d'Ehrlich, Eosine. × 1000.

Fig. 2. Le même individu entier. × 200.

Fig. 3. Portion très grossie d'une section longitudinale pour montrer la structure de l'épicyte. Sublimé acétique. Hématoxyline de Heidenhain.

Fig. 4 et 5. *Doliocystis Legeri* n. sp. Formol picro-acéto-alcoolique. Hématoxyline de Heidenhain.

Fig. 4. Portion d'une coupe transversale dans l'intestin de *Glycera convoluta* [KEF.] montrant un individu adulte fixé sur l'épithélium, la section transversale d'un individu libre, un kyste. × 600.

Fig. 5. Portion plus grossie du kyste de la figure précédente, montrant les deux catégories de noyaux. × 1200.

Planche IX.

Fig. 1—6. *Doliocystis elongata* (MINGAZZINI). Formol picro-acéto-alcoolique. Hématoxyline de Heidenhain.

Fig. 1. Très jeune individu plongé dans la sinus sanguin péri-intestinal de *Lumbriconereis impatiens* [CLAP.]. × 800.

Fig. 2 et 3. Individus plus âgés dans la même situation. × 800.

Fig. 4 et 5. Individus plus âgés établis dans l'épithélium et ayant déterminé par leur migration une effusion sanguine. × 800.

Fig. 6. Individu intraépithélial ayant atteint le maximum de son développement. Région antérieure d'un individu adulte libre fixé sur l'épithélium. × 800.

Fig. 7—13. *Doliocystis elongata* (MINGAZZINI), d'après des individus observés dans des frottis. Sublimé acétique. Hématoxyline de Heidenhain.

Fig. 7—9. Individus intraépithéliaux libérés par dilacération de l'épithélium intestinal de l'hôte. × 520.

Fig. 10 et 11. Stades libres (?). × 520.

Fig. 12. Jeune stade libre. × 520.

Fig. 13 Individu libre adulte. × 520.

Planche X.

Fig. 1—27. *Angeiocystis Audouiniæ* [BRASIL], du corps cardiaque d'*Audouinia tentaculata* [MONT.]. Fig. 1—5, 15—16, 27 d'après des frottis fixés au Sublimé acétique. Fig. 6—14, 17—26 d'après des coupes de l'organe fixé au Formol picro-acéto-alcoolique. Le tout coloré par l'Hématoxyline de Heidenhain et l'Eosine-Orange.

Fig. 1. Trophozoïte adulte. × 1250.

Fig. 2. Très jeune trophozoïte. × 2500.

Fig. 3. Le même dessiné au même grossissement que 1. × 1250.

Fig. 4. Jeune trophozoïte. × 2500.

Fig. 5. Le même dessiné au même grossissement que 1. × 1250.

Fig. 6. Fragment d'une section transversale du corps cardiaque d'*Audouinia tentaculata* montrant des trophozoïtes des deux formes et deux microgamétocytes au début de leur évolution. × 1000.

Fig. 7. Fragment d'une section transversale du corps cardiaque d'*Audouinia tentaculata* montrant quatre macrogamétocytes, un microgamétocyte avec microgamètes à la surface, un microgamétocyte avec les microgamètes se disséminant dans le voisinage, le reliquat dégénéré d'un microgamétocyte après le départ des microgamètes. × 800.

Fig. 8. Section transversale d'un microgamétocyte. La chromatine en grains fins abandonne le noyau et se rassemble à la surface. × 1600.

Fig. 9. Microgamétocyte. La chromatine superficielle se rassemble en quelques amas. × 1600.

Fig. 10. Microgamétocyte. Le nombre des amas chromatiques s'est accru. × 1600.

Fig. 11. Figure de division à la surface d'un microgamétocyte. × 1800.

Fig. 12. Microgamétocyte. La chromatine se rassemble en plaques compactes. × 1600.

Fig. 13. Microgamétocyte. La développement des microgamètes est presque achevé. × 1600.

Fig. 14. Section transversale dans un microgamétocyte mûr. × 1600.

Fig. 15. Microgamète très grossi. × 4000.

Fig. 16. Corps en croissant rencontré dans un frottis. Schizozoïte d'*Angeiocystis Audouiniæ*? × 2000.

Fig. 17. Section transversale d'un macrogamétocyte au début de son évolution. × 1600.

Fig. 18. Fragment de section transversale d'un macrogamétocyte coupant tangentiellement le fuseau de maturation. × 1600.

Fig. 19. Section transversale du fuseau de maturation d'un macrogamétocyte. × 1600.

Fig. 20. Section longitudinale du fuseau de maturation d'un macrogamétocyte. × 1600.

Fig. 21. Premier fuseau de segmentation (Fécondation?) dans un macrogamète. × 1600.

Fig. 22. Ookyste. Stade à deux noyaux. × 1600.

Fig. 23. Section transversale dans un ookyste au moment de la division des deux premiers noyaux. × 1600.

Fig. 24. Section transversale d'un ookyste intéressant trois sporoblastes. × 1600.

Fig. 25. Section transversale d'un ookyste intéressant trois sporocystes non mûrs. × 1600.

Fig. 26. Section transversale d'un ookyste intéressant trois sporocystes mûrs. × 1600.

Fig. 27. Sporozoïte isolé dans un frottis par éclatement d'un sporocyste. × 2000.

Sur l'*Amoeba blattae*.

Morphologie Génération.

Par
Dr. M. Elmassian,
Travail fait à l'Institut de Zoologie de l'Université de Munich.

(Avec Planche XI et 7 figures en texte.)

Depuis le dernier quart du siècle passé jusqu'à nos jours l'étude du vaste groupe des Rhizopodes a servi aux zoologistes pour établir nos connaissances générales sur la cytologie des Protozoaires. Il en est résulté que la plupart des individus appartenant à cet ordre sont à l'heure actuelle très bien connus, tant au point de vue de leur morphologie que de leur cycle évolutif. Mais malgré cela, et malgré les études minutieuses, faites dans le groupe des Amibiens par Schaudinn, Hartmann, Prowazek, Scheel, Goldschmidt, Doflein, Awerinzef, et tant d'autres, nos connaissances sur leurs modes de multiplication restent encore peu développées. Et alors que par un curieux hasard, pour des espèces appartenant à des groupes voisins des Amibiens comme les Mastigamoeba, on a tracé un schéma de cycle évolutif, on n'a que des données insuffisantes sur les premiers. Il s'ensuit que les recherches ayant pour objet l'étude de la génération chez les Amibiens nous paraissent pour le moment d'un très grand intérêt; et telles ont été les considérations qui nous ont guidé dans le choix de cet Amibe parasite, dont le volume relativement gros, la facilité avec laquelle on peut se le procurer, et sa vie parasitaire chez un hôte à température variable, constituent autant de conditions favorables pour son étude.

L'*A. blattae* découvert par Siebold (1839) et étudié soigneusement pour la première fois par Bütschli (1878) fut dans ces dernières années l'objet de minutieuses recherches de la part de Schubotz (1905), Janicki (1908). Enfin L. Mercier vient de faire une brève communication sur le même sujet (1908).

C'est à Bütschli que nous devons tout ce que nous connaissons sur la morphologie et la physiologie de cet Amibe. Schubotz a enrichi ces connaissances de quelques détails, en insistant surtout sur la structure intime du noyau et du protoplasma. Mais malgré les efforts tenaces et persévérants de ce savant et de Janicki, rien de ce qui concerne la multiplication et le cycle évolutif n'a pu être mis au jour. L. Mercier dans sa communication à l'Académie des Sciences donne pour la première fois une description d'une schizogonie simple chez l'*A. blattae*, processus d'ailleurs très rare, puisqu'il a pu échapper aux autres observateurs, et à nous-même, et qu'il n'explique nullement la prodigieuse multiplication du parasite dans l'intestin de son hôte. Ainsi, malgré les recherches réitérées des auteurs cités, l'histoire de l'évolution de cet Amibe restait obscure quand nous en avons abordé l'étude à notre tour.

Nous devons avouer que nous fûmes après un an d'actives recherches à peine plus heureux que nos prédécesseurs. Et si nous avons pu établir avec quelques détails morphologiques du noyau, les différentes phases de l'enkystement, et de son développement ultérieur, il ne nous fût, d'autre part, possible de voir ni l'éclosion des kystes, ni les phénomènes sexuels qui doivent a priori la précéder ou la suivre. Cependant quelque incomplètes que soient nos conclusions sur le mode de multiplication de ce parasite, elles peuvent néanmoins servir de point de départ pour des recherches futures.

Qu'il nous soit permis de présenter ici nos sincères remerciements au Maître vénéré Geheimrat Professeur Dr. R. Hertwig qui a bien voulu nous donner l'hospitalité dans son Institut e nous permettre non seulement de réaliser le présent travail, mais encore nous initier sous sa haute compétence, à l'étude si difficile des Protozoaires. M. le Privatdocent Dr. R. Goldschmidt et Dr. M. Popoff ont droit à notre entière reconnaissance pour avoir pris la peine de revoir nos préparations.

Technique.

Sur cinq Blattes provenant des lieux infestés une contient des Amibes; dans un cas contraire on peut en tuer un nombre considé-

rable sans en trouver une d'infestée. Pour avoir toujours à notre disposition des Blattes infestées, nous avons eu recours à l'infection artificielle. Pour cela, on conservait pendant un certain temps dans un bocal sur un peu de son ou de mie de pain en poudre, des animaux en pleine infection. Après quoi on les retirait et on les remplaçait par d'autres non infestés; ce qui permettait de pouvoir utiliser de suite les premiers. L'infection se fait par l'injestion des excréments qui contiennent des kystes d'Amibes.

Pendant la saison froide, les Blattes étant en hivernage leur intestin filiforme ne contient presque rien et ceux d'entre eux qui sont infestés renferment si peu de parasites qu'on ne peut les utiliser. Il y a lieu donc de rassembler des matériaux entre avril et septembre.

Quand on ouvre une Blatte infestée, on trouve les Amibes dans la partie dilatée du gros intestin qui se trouve immédiatement après le point d'insertion des tubes de Malpighi. C'est d'ailleurs là le point où tous les parasites de l'hôte se donnent rendez-vous, sauf peut-être les *Nyctotherus* qui s'étendent jusqu'au rectum.

Au début de nos recherches, nous nous sommes appliqués à faire des préparations totales. Pour ce, on versait le contenu intestinal d'une Blatte infestée dans un verre de montre, plein d'une solution aqueuse picro-acétique telle qu'elle est employée dans les laboratoires de Zoologie. Après 20 minutes de fixation, on portait le tout dans l'alcool à 75°, pour lavage et on colorait par le carmin boracique. La différenciation était obtenue par l'alcool acide (0,5 %) après quoi, ayant fait agir soigneusement la série montante des alcools, on examine l'objet d'étude dans l'essence de girofle.

Cette méthode excellente qui donne de si bons résultats dans d'autres cas, ne nous en donna presque aucun, car les kystes à peine gros de 30 à 40 μ se perdent en grande partie pendant les manipulations. En outre, en raison même de la forme sphérique de l'Amibe, il est impossible de l'examiner par les forts grossissements sans l'aplatir entre la lame et la lamelle, opération risquée qui provoque l'écrasement du parasite devenu friable dans l'essence. D'autre part si l'on tient compte du fait si souvent signalé par ceux qui se sont occupés de l'*A. blattae* c'est à dire de l'extrême difficulté qu'il y a de surprendre les différentes phases de son évolution, on peut risquer dans de telles conditions de faire des milliers de préparations sans pouvoir observer le moindre fait intéressant.

Quant à nous, tout en reconnaissant l'excellence de la méthode des préparations totales, nous avons adopté de préférence la sui-

vante: nous avons étudié les Amibes sur des coupes de l'intestin de la Blatte. On fixe la partie dilatée de cet organe dont il a été question plus haut, dans différents liquides fixateurs. Parmi ces derniers, nous avons donné de suite notre préférence à la solution de sublimé, telle qnelle a été formulée par Schaudinn, à laquelle nous ajoutons encore 1 à 2 % d'acide acétique, et nous opérons à froid. Ici la durée de la fixation est d'une importance capitale. Il ne faut jamais dépasser une heure; une demi-heure est même tout à fait suffisante. Une fixation de deux heures produit à coup sûr un ratatinement des noyaux des Amibes.

On fait dans les intestins, inclus dans la paraffine, des coupes de 5 à 10 μ d'épaisseur. Nous avons préféré les avoir ún peu épaisses (10 μ) à cause du contenu de l'intestin qui contient des substances dures invraisemblables comme toutes espèces de grains inorganiques, sable, etc.; il devient difficile, non seulement d'avoir des coupes fines, mais même exactement sériées. En coupant l'organe infesté à 10 μ nous avions aussi l'avantage de tenir un kyste du parasite en deux ou trois coupes. Car un kyste qui mesure en moyenne de 30 à 40 μ se contracte par les manipulations de l'inclusion et se réduit presque à la moitié de son volume. Dans ce cas la nécessité de couper en série perd un peu de sa rigueur.

Quelles que soient les critiques qu'on pourrait adresser à la technique que nous avons adoptée, nous l'avons faite pour l'économie de temps et de peine qu'elle nous permettait de réaliser, ce qui nous mettait à même de poursuivre nos recherches.

Pour ce qui concerne la coloration, elle a été obtenue surtout par le carmin boracique alcoolique de Grenacher. L'hématoxyline de Delafield, si favorable à l'étude des Protozoaires, ne nous a pas servi d'une façon satisfaisante, car elle colore tout le contenu de d'Amibe et masque ainsi le noyau. Quant à l'hématoxyline ferrique, nous nous en sommes servis comme moyen de contrôle, dans quelques cas spéciaux, et encore sur des coupes très fines qui d'ailleurs étaient préalablement étudiées par le carmin boracique.

Les figures de la planche qui accompagne ce travail ont été dessinées par nous mêmes, à l'aide de l'appareil d'Abbé, en nous servant de l'occulaire compensateur 8 et de l'objectif apochromatique 2, de Zeiss.

Morphologie.

Ainsi que nous l'avons dit, nous devons les connaissances acquises sur la morphologie et la structure intime de l'*A. blattae* en grande

partie aux travaux de BÜTSCHLI et de SCHUBOTZ qui ont laissé peu de chose à ajouter à leur description. JANICKI et L. MERCIER apportèrent aussi tout dernièrement quelques minimes détails qui d'ailleurs se rapportent plutôt à l'évolution propre du parasite et ne concordent que peu ou pas entre eux. Nous reprendrons la description de l'*A. blattae* pour pouvoir y intercaler nos propres observations concernant sa structure intime et faire, chemin faisant, les réserves que nous formulons à l'égard de quelques assertions de SCHUBOTZ et de JANICKI.

L'Amibe de la Blatte présente une dimension très variable qui flotte entre 10 et 150 μ, mais sa taille moyenne, telle qu'on la trouve dans les infections intenses, est de 50 μ. Il n'est pas rare de rencontrer de toutes petites formes comme des vermicules qui simulent surtout quand ils sont mobiles, de jeunes Grégarines (voir fig. de texte a, b, c). Les formes immenses de 150 μ ne sont fréquentes qu'à la fin de l'infection.

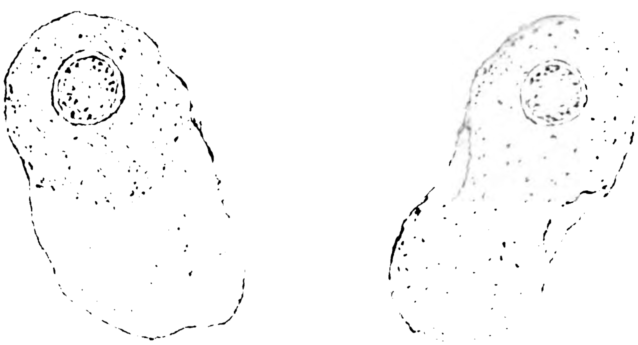


a b c

Le protoplasma de l'Amibe a une structure alvéolaire très inégale et très grossière. Tandis que les parties périphériques sont formées d'alvéoles minuscules à paroi mince et granuleuse, les parties centrales, celles notamment qui contournent le noyau, sont grossièrement alvéolaires contenant même plusieurs vacuoles énormes, où s'accumulent d'ordinaire les restes des matières digérées. D'après BÜTSCHLI, il n'existe pas ici une distinction des parties périphériques et centrales en ecto- et endoplasma. Cette opinion est confirmée par SCHUBOTZ. Sans contredire absolument cette façon de voir, nous croyons cependant qu'elle est peut-être trop absolue. Car, lorsque l'animal est au repos complet, on peut nettement percevoir un liseré mince très brillant et très granuleux qui limite le corps de l'animal. Très souvent, chez des individus de grosse taille dépourvus de contenu alimentaire et même à l'état d'immobilité, on voit très distinctement une partie obscure qui se confond aux voisinages du noyau et une autre qui occupe tantôt les deux flancs de l'animal, tantôt une de ses extrémités (voir fig. de texte d, e).

L'existence dans le protoplasma des régions à structure fibreuse qui, selon BÜTSCHLI confère à l'Amibe cet aspect strié sur lequel il

a tant insisté, est pour nous difficile à admettre. Jamais dans nos préparations, nous n'avons pu voir quelque chose qui s'en rapproche. SCHUBOTZ qui n'admet pas non plus l'existence de ces fibres, explique à son tour cet aspect strié caractéristique incontestable de l'animal, par des trainées de grains de taille différente qui grâce à l'existence de courants particuliers prendraient des dispositions rectilignes dans le protoplasma. Mais dans les coupes d'animaux, soit au complet repos, soit surpris en mouvement, on ne voit point de trainées de granulations. Ces stries, nous les avons parfaitement vues nous-même,



d e

mais chez les Amibes de certaine taille contenant peu ou pas de particules alimentaires. Avec un faible grossissement, elles sont encore plus manifestes, surtout au début de leur mouvement. Cet aspect strié est toujours fugace, partiel, et ne se renouvelle qu'à de rares intervalles. D'après nous, les stries ne sont que superficielles et ne sont nullement en rapport avec la constitution du protoplasma fibreux ou granuleux, mais uniquement dues à un plissement de la surface de l'Amibe. Ces plis disposés tout au long de l'animal ne parviennent jamais jusqu'à la périphérie ce qui appuie notre thèse; les parties périphériques étant le siège des pseudopodes, partant de là, très mobiles et défavorables au plissement.

L'*A. blattae* est caractérisé par son gros noyau qui mesure en moyenne de 10 à 12 μ, mais qui peut atteindre dans certains cas 14, 16 et 18 μ. Nous ne l'avons jamais trouvé plus volumineux. Le chiffre donné par JANICKI nous parait exagéré (0,025 mm). La forme du noyau est très régulièrement sphérique. Parfois il s'allonge et devient un ellipsoïde ou un ovoïde. Dans ce cas, une de ses extrémités peut présenter un léger prolongement; il a alors l'aspect d'un citron. Ce fait observé aussi par JANICKI est signe d'une récente

division. Cet auteur dit que le prolongement en question serait parfois aussi long que le noyau et persisterait un certain temps.

La membrane du noyau est très épaisse et atteint de 1 à 2 μ. Homogène et transparente, elle présente en coupe optique deux lignes limitantes dont l'extérieure retient mieux les colorants et parait plus épaisse.

L'intérieur du noyau est séparé en deux zones bien distinctes: une, centrale constituée par un fin réticulum de substance achromatique, l'autre, périphérique, accolée à la paroi interne de la membrane. Cette dernière zone contient les granulations caractéristique du noyau. Dans cette zone, le réticulum central continue et va jusqu'à la membrane où il s'insère. Mais cette partie périphérique du réticulum est masquée par les granulations chromatiques qu'elle contient dans ses mailles. On peut dire que tout le noyau est constitué intérieurement par un système réticulaire très fin et très lâche qui sert de support aux granulations plastino-chromatiques. Ces dernières in vivo sont très manifestes en ce sens qu'elles sont brillantes, réfringentes; Janicki veut qu'elles soient aussi jaunes; pour nous, elles ne sont nullement colorées; c'est plutôt la membrane qui reflète parfois cette nuance.

Sur la limite entre la zone centrale et la zone périphérique se trouvant les gros nucléoles à chromatine et à plastine. Ces nucléoles affectent les formes les plus diverses: sphérique, ovoïde, cubique, allongée en bâton ou rétrécie au milieu (fig. de la pl. X) ou enfin le tout ramassé en une grosse boule (fig. 2, 3, 5). D'autres fois ils se fragmentent en gros grains (fig. 8, 9) ou en fines granulations. Toutes ces variétés morphologiques constituent les modifications du noyau au stade végétatif, vraisemblablement en rapport avec les fonctions intimes de l'Amibe. De semblables phénomènes ont été signalés par Schaudinn chez *Trichosphaerium Sieboldi*, par Nereshеimer chez l'*A. Dofleini*, ce qui démontre que ces modifications du noyau sont un phénomène très fréquent chez les Rhizopodes. Il y aurait peut-être quelque intérêt à établir pour ces faits des relations de cause à effet dans les cas où l'observation in vivo prolongée serait possible. Les mouvements intrinsèques du noyau, signalés par Schubotz et niés par Janicki, nous paraissent bel et bien exister. Et d'ailleurs, sans cela, comment pourrait-on expliquer les modifications in toto du noyau ou les modifications partielles de son contenu?

Ici nous voulons attirer l'attention sur un fait très curieux: c'est l'existence d'Amibes sans noyau, fait qui est corroboré d'autre part par l'existence dans le contenu intestinal de noyaux d'Amibes

tout à fait en bon état. Cette dernière particularité observée d'abord par Grassi (1882) a été interprété par ce savant comme un phénomène très fréquent chez cet Amibe. Tout individu à deux noyaux en expulserait un, lequel s'entourant d'un peu de protoplasma donnerait lieu à un nouvel élément vivant. Janicki qui fut témoin du même fait n'admet pas l'interprétation de son maître. Nous même qui avons observé au cours de ces recherches non seulement des noyaux libres, mais aussi en voie d'expulsion, nous considérons le phénomène comme très répandu chez l'*A. blattae* mais sans cependant pouvoir lui donner sa véritable signification. Si l'expulsion dont il s'agit n'était pas aussi fréquente que nous l'avons constaté, nous aurions pu croire qu'il s'agit là d'un fait pathologique exceptionnel. D'ailleurs des faits analogues ont été signalés par Drzewecki (1904—07) et Kuchakewitsch (1907), respectivement chez *Stomatophora coronata*, *Monocystis agilis*, *Monocystis porrecta* et chez *Gregarina cuneata*, *G. Steini* et *G. polymorpha*.

Les particules alimentaires dont est bourré le corps de l'*A. blattae* ont été considérées par différentes auteurs, entr'autres Meissner, comme des grains d'amidon. Ceci n'est vrai que quand l'animal est nourri par la farine, mais même dans le cas d'une nutrition à la mie de pain ou au son de froment, les Amibes ne contiennent pas de grains d'amidon. Les particules en question sont plutôt des petits Flagellés qui abondent dans l'intestin de la Blatte et qui sont l'aliment de choix pour l'Amibe. Soit dans les préparations totales, soit dans les coupes de l'intestin on les trouve à l'intérieur de l'animal et fixent très bien les colorants de Giemsa et l'hématoxyline. Voilà la raison pour laquelle nous avons évité ces deux colorants au cours de nos études, parce que la coloration diffuse du noyau et du contenu protoplasmique rendait impossible l'examen microscopique, le dernier masquant le premier. Le carmin boracique qui supporte une différenciation énergique permet seul d'avoir le noyau coloré alors que tout se décolore autour de lui.

La vitalité de notre parasite n'est pas très grande en dehors de son hôte. Toutefois, il peut vivre plus de 24 heures soit dans l'eau physiologique dans un verre de montre, soit entre lame et lamelle dans une chambre humide. Malheureusement, durant tout cet espace de temps, il ne présente à l'observation rien d'important au point de vue de sa physiologie encore moins au point de vue de sa génération. L'animal ramassé en boule reste complètement immobile, ou lance de temps à autre un pseudopode pour se déplacer indolemment Voilà pourquoi on éprouve tant de difficultés à étudier cet Amibe

in vivo. Après 24 heures, celui-ci est imbibé du liquide ambiant, gonflé, boursouflé et l'on voit à côté de lui une pellicule ronde qui semble lui appartenir.

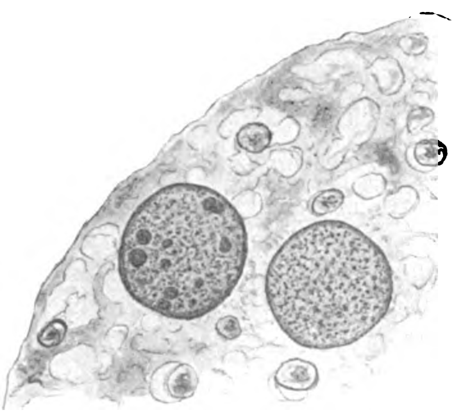
Toutes les tentatives que nous avons faites pour le cultiver sur gélose ont échoué, bien qu'il soit parvenu à se maintenir jusqu'à 48 heures vivant. Mais durant cette vie anormale il ne se produit rien qui ait trait à son enkystement ou sa division. On ne peut donc tirer de cette vitalité atténuée aucun bénéfice. Il est curieux que cet Amibe vivant sur son hôte à température variable dans des conditions à première vue très peu compliquées soit si impropre à conserver sa vitalité normale, dans les milieux artificiels. Par tout ce qui précède, nous ne concluons pas à l'impossibilité de le cultiver, bien au contraire, nous croyons que notre échec est dû à ce que nous n'avons pas pu peut-être réaliser les conditions favorables à son développement en milieu artificiel en créant un équilibre isotonique entre ce dernier et le protoplasma de l'Amibe.

Enkystement.

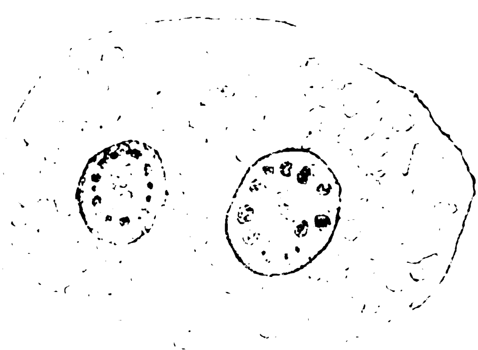
La question de la génération chez l'*A. blattae* malgré tant d'efforts est restée jusqu'ici tout à fait obscure. Les observations de Bütschli et de Schubotz ne signalent pas autre chose que la présence dans le contenu intestinal et dans les excréments de la Blatte de kystes contenant de nombreux noyaux: Janicki dans sa note parle laconiquement d'une histoire d'évolution qu'il aurait étudiée chez ce même Amibe, mais ses observations sont, parait-il, trop incomplètes pour être publiées. Mercier est le seul jusqu'ici qui ait parlé d'un mode de multiplication chez ce parasite. D'après lui, le noyau d'un Amibe se préparant à se diviser perd tous ses gros karyosomes et toute sa chromatine se fragmente en plus petits grains. Il ajoute: „A un stade ultérieur, les granulations se présentent disposées le long d'un ruban achromatique enroulé plusieurs fois sur lui-même; bientôt, elles disparaissent et le ruban se colore uniformément par l'hématoxyline ferrique. Le noyau présente alors un aspect analogue à un spirème. Le ruban chromatique se coupe et donne quatre grands chromosomes se répartissant en deux groupes comprenant chacun deux éléments. On ne peut s'empêcher d'être frappé de l'analogie que la succession de ces stades présente avec ceux d'une mitose typique; cependant, il faut remarquer qu'il y a ici absence complète de figure achromatique. Après l'individualisation des quatre chromosomes, on trouve encore, à côté de ceux-ci,

quelques sphérules chromatiques; ce fait semble indiquer que toute la chromatine du noyau ne participe pas à la division.“ D'après cette description, il nous est difficile de voir là une division mitotique, il s'agit tout simplement d'un changement du noyaux dans lequel les quelques variations de la chromatine ne sont peut-être autre chose que la modification du noyau au stade végétatif dont il a été question plus haut. Il est d'ailleurs très difficile de se faire une idée exacte de la description donnée par Mercier, laquelle n'est pas accompagnée de figures. Mais d'ores et déjà nous pouvons dire qu'elle n'est pas conforme avec nos propres observations. La division chez l'*A. blattae* se produit d'une façon si rapide qu'elle a pu échapper à tous ceux qui nous ont précédé dans ces recherches comme d'ailleurs à nous-même. Cependant les modifications morphologiques du noyau précédant ou suivant cette division sont relativement longues et l'on a tout le loisir de les étudier.

Selon Mercier, la membrane du noyau ne subirait pendant toute la durée de la mitose aucune espèce d'altération, ce qui nous parait douteux. Quoique nous n'ayions jamais pu suivre d'un bout à l'autre une division chez l'Amibe en question, nous avons toutefois dans nos préparations des centaines de figures représentant l'état du noyau immédiatement avant et après, où on voit nettement que la mem-



f



g

brane s'amincit considérablement à cet effet jusqu'à perdre son aspect caractéristique à double contour. Cette réduction d'épaisseur de la membrane persiste même assez longtemps après la division (voir fig. 15 et fig. de texte f et g). On voit dans la première et la seconde de ces figures que le noyau est réduit à un tissu réticulaire exces-

sivement délicat sur les travées duquel la chromatine s'est fixée en une fine granulation. Quelques nucléoles par ci par là sont déjà en train de se former pour rendre au noyau son aspect normal. Dans la fig. g les deux noyaux filles ont déjà eu le temps de se reformer tout entiers à l'image du noyau mère sauf cependant la membrane qui reste toujours mince et à simple contour.

Etant donné ce qui précède, nous faisons des réserves sur la nature et les processus de la division vue par Mercier chez l'Amibe dont il s'agit.

Les kystes expulsés par les matières fécales sont les seuls éléments de propagation. Les Blattes en ingérant les aliments souillés s'exposent à l'infection. Donc il parait a priori que l'enkystement est pour notre Amibe le terme final d'une série d'évolutions intimes par où il passe pour se préparer à une nouvelle génération. Il nous a semblé, dès l'abord, que poursuivre les phénomènes morphologiques ou autres qui accompagnent l'enkystement nous permettrait de déceler les conditions essentielles de la reproduction du parasite. Ceci était pour nous d'autant plus facile que l'enkystement ayant lieu dans les intestins de l'hôte, le champ de l'observation se trouvait parfaitement limité. Il aurait en effet suffi de chercher dans des cas d'infection intense toutes les formes intermédiaires entre l'animal adulte et l'animal enkysté. Nous ne pouvions pas songer à une culture du parasite hors de l'intestin de l'hôte pour les raisons que nous avons exposées dans un chapitre antérieur. Mais ici même, nous nous sommes heurtés à une difficulté par le fait que dans l'intestin des Blattes infestées, il se trouve très peu de kystes, autrement dit très peu d'Amibes évoluant vers l'enkystement; la plupart périssent par l'expulsion de leurs noyaux dont il a déjà été question plus haut et qui nous parait être un fait très commun chez l'*A. blattae.* A ce propos nous nous sommes adressés à un subterfuge qui nous a donné pleine satisfaction. Chez une Blatte infestée, nous avons détaché la partie de l'intestin contenant les Amibes, et nous l'avons mise dans l'eau physiologique, où nous l'avons abandonnée 24 heures à la température de la chambre. Le lendemain, la plupart des Amibes se trouvaient enkystés. Quoique ce procédé ne soit pas d'une rigueur mathématique et qu'il donne parfois des mécomptes, il nous a cependant permis d'obtenir des kystes en nombre suffisant pour réaliser ces recherches. Seulement l'enkystement se faisant dans les conditions indiquées d'une façon très rapide et très capricieuse, il fallait modifier notre procédé pour le rendre plus sûr.

C'est ainsi que, nous avons eu recours au froid et nous avons transporté les intestins contenus dans l'eau physiologique à l'étuve à 12°. Là, notre succès fut plus complet. L'enkystement se fait ainsi plus lentement et en prélevant à des intervalles variés un certain nombre d'Amibes, on peut avoir la chance d'en surprendre les différentes phases de l'enkystement. Les Amibes se conservent à cette basse température plus longtemps qu'à celle de la chambre, de sorte que, après 9 jours de séjour à l'étuve de 12°, nous les avons trouvés encore vivants et mobiles. Telles sont les conditions pour obtenir l'enkystement pour ainsi dire artificiel chez l'*A. blattae*, lesquelles nous permirent de faire quelques observations utiles sur l'évolution de cet Amibe que nous résumerons dans les lignes qui suivent.

Quand on examine attentivement le contenu intestinal d'une Blatte infestée qu'on vient de tuer, ou qu'on a conservée durant plusieurs jours à la température de 12°, l'attention est vite attirée par les différences qu'il y a entre les kystes, comme aspect et comme couleur. En règle générale un kyste en dehors de sa capsule gélatineuse renferme une substance protoplasmique granuleuse dans laquelle se trouvent un grand nombre de noyaux de petite taille. Or tandis que les uns, colorés ou non, sont d'un aspect sombre, les autres se distinguent de ceux-là et par leur aspect clair et par le nombre relativement restreint (presque la moitié des premiers) de leurs noyaux. Ce fait ayant constitué le point de départ d'une série de recherches, nous nous sommes demandés si on ne pouvait pas confirmer cette différence entre deux groupes de kystes par une étude parallèle de leur évolution dès leur origine. Là aussi nos attentes ne furent pas vaines, et nos observations nous ont permis d'établir d'une façon catégorique qu'il y a vraiment deux processus d'enkystement. Eu égard à leur aspect et sans vouloir rien préjuger dès à présent sur leur rôle réel, nous appellerons ces kystes, les uns kystes sombres, et les autres kystes clairs.

Kystes sombres.

Quand l'*A. blattae* est prêt à s'enkyster, il commence par expulser de son sein toutes les particules alimentaires, sauf les Bacilles et Coccus qu'on trouve plus tard presque toujours dans les kystes. Cette expulsion dure longtemps, plusieurs heures, même plusieurs jours, pendant lesquels l'animal ramassé sur lui-même exécute un mouvement giratoire sur place dont la direction peut-être indiffé-

remment de gauche à droite ou vice versa. Avec les particules alimentaires, une grande quantité de liquide abandonne les alvéoles du protoplasma qui devient de plus en plus dense. A un moment le corps de l'Amibe est réduit à la moitié, puis au tiers de son volume primitif et ne mesure que 30 à 40 μ, alors qu'il mesurait auparavant 80 à 100 μ. Son noyau n'a encore subi aucune modification, il est tout au plus un peu plus volumineux, et atteint très facilement 16—18 μ. Une double membrane le limite encore et à son intérieur apparaissent de gros nucléoles de chromatine qui sont soutenus par le réticulum achromatique intact (voir fig. 10).

Mais l'Amibe ne tarde pas à s'entourer d'une pellicule de gélatine d'abord mince, qui plus tard s'épaississant, prendra un double contour achevant l'enkystement. Il nous est difficile de dire quelle est exactement la modification subie à ce moment par le noyau, n'ayant jamais pu le surprendre à cette période précise. Mais très vraisemblablement sa membrane éclate et son contenu se répand dans le protoplasma qui se remplit tout entier de substance nucléaire se colorant en rouge vif par le carmin boracique (après différenciation). La fig. 11 nous présente l'état d'une période de kyste après la formation de la capsule gélétineuse immédiatement après l'éclatement du noyau principal. On y trouve le contenu nucléaire répandu dans le kyste sous forme d'une fontaine jaillissante. Dans les masses périphériques rouges que nous considérons comme étant du chromidium sexuel on voit se détacher des petits noyaux de 4 μ qui par leur forme et leur aspect font pressentir une prochaine division. En effet, si on les examine de plus près on constate qu'ils sont limités par une membrane mince, remplis de grains fins irréguliers et disposés de telle façon que l'ensemble donne l'impression d'un fuseau très simple, très primitif, à peine ébauché.

La fig 12 et la fig. 13 représentent encore deux modalités de la même période que le kyste précédent, c'est à dire celle qui suit immédiatement l'éclatement du noyau principal; où les noyaux de second ordre conservent exactement les mêmes aspects, les mêmes caractères. Seulement ici le réseau chromidien (fig. 13) est plus manifeste, et en forme d'un réticulum qui rayonne du centre à la périphérie. La fig. 12 représente un kyste très semblable à celui représenté par la fig. 11. En raison même du mode de formation des noyaux contenus dans les kystes, nous les considérons comme des noyaux secondaires.

A partir de ce moment le kyste perd insensiblement sa coloration intense dans les préparations; les noyaux secondaires conti-

nuent à se diviser et nous arrivons à une phase où (fig. 21) le nombre de ces derniers s'est considérablement accru. Quelques uns d'entre eux sont entourés d'un halo semilunaire à réaction colorante nucléaire intense, tandis que d'autres accolés les uns aux autres suggèrent l'idée ou d'une fusion. Il y a à côté de ces noyaux des petits grains de chromatine dispersés par-ci par-là dans le kyste, lesquels rappellent beaucoup les corpuscules de réduction. Il est à noter que le nombre de ces grains correspond à peu près au nombre de noyaux qui sont dépourvus de halo. Nous nous demandons ici si nous ne sommes pas en présence d'un phénomène analogue à celui observé par Neresheimer (1907) chez les *Opalina* lesquels réduisent leur chromatine à peu près par le même processus pendant leur évolution. Il nous est difficile d'insister car nous avons trouvé très peu de fois un tel kyste et nous ne voulons rien en préjuger formellement.

Dès ce moment, le contenu kystique commence à prendre une nouvelle forme: les noyaux par les multiples divisions qu'ils subissent deviennent de plus en plus petits, ils se rassemblent dans une portion du protoplasma du kyste franchement différenciée du reste par un aspect finement granuleux et une tendance à se colorer d'une façon très intense. Cette masse de protoplasma fortement colorée (au contraire très brillant in vivo) qui par son aspect caractérise le groupe de kystes sombres que nous étudions, renferme une substance particulière réagissant vis à vis des colorants comme de la chromatine. Nous sommes enclins à croire qu'il s'agit là d'un reste de chromidium qui sert probablement de substance de réserve pour les noyaux en développement. Sa disposition à l'intérieur du kyste est des plus variées. Elle en occupe parfois le centre, d'autres fois un segment et souvent même y limite des cavités alvéolaires très grosses comme dans une éponge, et avec cette particularité que les noyaux secondaires se trouvent uniquement dans l'intérieur de cette masse. En dehors de cette partie vivement colorée du kyste, il y en a aussi une autre, occupée par du protoplasma d'aspect également granuleux mais beaucoup plus clair et qui fait contraste avec la première (fig. 14).

Quelle est la signification de l'existence de ces deux espèces de régions protoplasmiques contenues dans le kyste? La réponse est assez embarassante. Le seul fait sur lequel nous voulons insister, c'est l'élection qu'ont les noyaux secondaires pour la partie sombre du kyste où ils se maintiennent sans jamais la dépasser, où ils se développent et où même ils ont pris probablement naissance.

Il ne nous parait pas impossible d'admettre que la zône de kystes en question est précisément celle où après l'éclatement du noyau, le chromidium sexuel s'est cantonné. Quand le kyste arrive à une période très avancée de son développement, c'est à dire à la période où nous le trouvons à l'intérieur de l'intestin, son protoplasma ne présente plus de différenciation, il est partout uniforme. Les noyaux ont perdu de leur volume, mais leur nombre s'est accru. Ils sont rassemblés les uns sur les autres au centre du kyste et sont toujours nus, nous voulons dire qu'ils ne sont entourés d'aucune couche protoplasmique propre à eux. Son aspect caractéristique quand il est coloré est d'être sombre et de contenir un très grand nombre de noyaux, à peu près 72 (voir fig. 22, cette figure représente la moitié d'un kyste).

Le volume et la structure, ainsi que le nombre des noyaux secondaires, varie beaucoup suivant leur âge. D'abord très volumineux: 4 μ (fig. 11, 12, 13) ils ne mesurent plus au moment de l'expulsion du kyste que 2 μ. Leur dimension intermédiaire est facile à saisir de même que leur aspect différent dans les figures que nous avons indiquées plus haut. Quant à leur structure, il est assez délicat de la déterminer étant donné leur taille minime, et aussi le colorant dont nous nous sommes servi pour leur étude. Néanmoins, voici comment on les trouve constitués. Au début de leur formation (fig. 11, 12, 13) ils sont limités par une membrane très mince et par un réseau achromatique très difficile à mettre en évidence par le carmin boracique; un grand nombre de grains chromatiques disposés tout au long de leur plus grand axe simulent ou révèlent un fuseau à l'état primitif. Dans les périodes ultérieures, le noyau secondaire est sphérique, sa membrane, plus épaisse et ses grains de chromatine, accumulés au centre. Ces derniers sont d'autant plus abondants que le noyau est plus jeune. Quand le kyste abandonne l'intestin de l'hôte, ces grains sont disposés au pourtour des noyaux secondaires comme ils sont représentés par Schubotz dans ses figures; faute de place nous n'en avons pas figuré dans notre planche.

Le nombre des noyaux à l'intérieur de ces kystes varie un peu. Nous croyons que le volume du kyste joue un rôle dans cette variabilité. Cependant voici les déterminations que nous avons pu établir à cet égard. Au début, après l'éclatement du noyau principal, on compte en moyenne 18 noyaux; et à la fin de leur séjour dans l'intestin les kystes sombres en contiennent à peu près 72 (mais ce nombre est parfois variable). Nous en concluons que les noyaux

primitifs se divisent 2 fois; la première division étant très vraisemblablement une mitose.

Kystes clairs. — Ceux-ci se différencient des précédents comme il a été dit, par leur aspect moins sombre, par leurs noyaux moins nombreux, mais encore et surtout par leur évolution toute différente depuis les premiers jusqu'aux derniers moments de leur enkystement. Déjà quand le parasite est encore à l'état végétatif, avant même que son corps protoplasmique ait commencé à se débarasser de son contenu, son noyau a subi une modification remarquable, diamétralement opposée à ce qu'on a vu chez les kystes sombres dans une période de vie correspondante. Là les nucléoles de chromatine se multipliaient en nombre et augmentaient de volume, probablement pour amasser le plus de chromatine possible; tandis qu'ici le contenu nucléaire s'accroit par un processus tout différent: le noyau devient énorme, il a perdu sa forme sphérique et prend celle d'un ellipsoïde régulier. Son grand axe longitudinal atteint 18 μ le plus court, 14—15 μ (fig. 16). Sa membrane conserve encore son doubel contour, mais elle est notablement amincie. Son contenu est uniforme, toute la chromatine finement fragmentée est répartie sur son réticulum achromatique ou sur les points de croisement de ses travées. Mais ce qui attire surtout l'attention c'est l'absence, disons le encore une fois, de toute espèce de nucléole, soit de chromatine, soit de plastine. Cet Amibe évoluant vers l'enkystement (fig. 17) va subir les mêmes modifications protoplasmiques qui sont survenues chez les kystes sombres: réduction de son volume jusqu'à 40 μ, disparition de sa structure alvéolaire et son remplacement par une structure tassée et serrée et enfin sa forme sphérique. Autant de signes pour démontrer que si l'Amibe n'est pas enkysté, il n'est pas loin de l'être. Bientôt sa membrane nucléaire s'amincissant de plus en plus (fig. 18) se présente en coupe optique comme une ligne. La forme du noyau s'allongeant d'abord davantage et à l'intérieur des grains de chromatine d'inégale grosseur se disposant longitudinalement selon son grand axe sur des lignes sensiblement parallèles, on a vaguement l'impression d'un fuseau. Des Amibes à cette période de leur évolution sont très nombreux dans nos préparations et ne varient entre eux par aucun détail. Très peu après, le noyau principal se divise en deux, donnant lieu à deux noyaux filles, le protoplasme se tasse encore, enfin la capsule gélatineuse se forme et nous avons sous les yeux un kyste tel qu'il est montré par la fig. 19. Ces deux noyaux ont une structure spéciale; leur membrane nucléaire est mince, leur fin réticulum est chargé de petites granulations chroma-

tiques, enfin ils ont des caractères morphologiques comme ceux que nous avons constatés chez les noyaux de l'Amibe à l'état végétatif, qui venait de se diviser. Les deux noyaux filles du kyste (fig. 19) au lieu de reprendre leur forme habituelle entreront à nouveau en mouvement kinétique et donneront lieu à deux fuseaux d'un aspect et d'une constitution très curieux (fig. 20). L'un de ces fuseaux est déjà étranglé à son milieu et il ne va pas tarder à se diviser tandis que l'autre encore entier montre à ses deux extrémités deux masses vivement colorées vers lesquelles convergent les filaments achromatiques. Ces deux fuseaux en donneront quatre (fig. 25 et fig. 30) mais ici l'aspect des fuseaux change encore une fois. Dans la première de ces figures, les fuseaux sont réguliers et d'une structure délicate, leurs extrémités sont pointues, et l'une d'elles plus chargée de chromatine indique que la division préalable est toute récente. Les fig. 23, 29 présentent des fuseaux très allongés, et même croisés, comme on en voit chez les Ciliata avant et après la copulation ainsi que l'a indiqué M. le prof. Hertwig dans son travail sur les phénomènes sexuels chez les *Paramecium aurelia* (1889). Sur le milieu de ces longs fuseaux se présente parfois une partie très effilée où on trouve même un renflement analogue à ceux qui ont été observés dans les *Paramecium.*

Puis ces quatre fuseaux se dédoubleront, et il y aura huit fuseaux, lesquels se divisant encore deux fois, le nombre des noyaux s'élèvera à 32, ce qui est le chiffre des noyaux qu'on trouve toujours dans les kystes clairs. Ces derniers sont donc dans le contenu intestinal très transparents in vivo, très clairs en préparation colorée, caractérisés par leur masse protoplasmique très finement granuleuse et le nombre réduit de leurs noyaux (fig. 24).

Avant de finir ce chapitre, disons un mot sur les particularités des fuseaux qui changent d'aspect d'un kyste à l'autre et suivant leur nombre. Ils ont cependant ceci de commun que les chromosomes en grains fins ou en fine poussière couvrent les éléments achromatiques et créent ainsi une ressemblance frappante avec les fuseaux des Ciliés. En outre, il n'y a chez les fuseaux de l'*A. blattae* ni centrosome, ni sphère, et les points vivement colorés que nous avons trouvés, d'ailleurs d'une façon inconstante, à leurs extrémités, ne nous paraissent pas être de vrais centrosomes. Si l'on tient comme fixe le nombre de 32 que nous avons indiqué pour les noyaux des kystes clairs, on peut en conclure que l'Amibe qui leur a donné naissance s'est divisé cinq fois. La fig. 24 représente un demi-kyste.

Nous avons trouvé très souvent dans nos préparations des kystes qui avaient à leur intérieur des noyaux profondément altérés jusqu'à se réduire en une masse informe de chromatine. Ni dans leur nombre, ni dans ceux qui restaient normaux nous n'avons pu trouver de quoi pour servir de base pour une interprétation de ce phénomène et force est de reconnaître qu'il sagit là d'un fait pathologique accidentel. Les fig. 33 et 32 montrent un kyste clair et un kyste sombre avec des noyaux en dégénérescence.

En présence de ces deux espèces de kystes si profondément differents, comment pourrait-on envisager la question de la génération chez l'*A. blattae?* A priori, on pourrait penser qu'au moment de l'éclosion de ces kystes, chaque noyau entouré d'une portion minime de protoplasma constituera un nouvel Amibe. Dans ce cas, pourquoi la nécessité de deux kystes, et aussi comment concevoir une suite de générations sans manifestations sexuelle, car au cours de cet exposé nous n'en avons signalé aucune. Autant de considérations qui nous ont suggéré l'étude de l'éclosion des kystes. Quelques-uns isolés des excréments de la Blatte ont été placés soit dans le suc gastrique, soit dans le suc intestinal de cette dernière et observés sous le microscope pendant plusieurs jours. Ces kystes après avoir présenté certaines modifications intérieures, restaient stationnaires et n'arrivaient jamais à éclore. D'autre part, l'existence des spores de moisissures rendait l'observation difficile, tout au moins il nous a été impossible de la prolonger au delà d'une vingtaine de jours. Après trois semaines, même avant, toutes nos chambres humides étaient envahies de touffes myceliennes. Les substances ajoutées aux sucs organiques comme une parcelle de camphre ou de thymol étaient inefficaces à cette dose; elles étaient au contraire nuisibles aux kystes quand on employait des doses supérieures. Après avoir répété ces expériences un grand nombre de fois nous y avons renoncé, non pas que nous considérions comme impossible de créer une technique appropriée; mais nous nous sommes convaincus que des recherches dans cette voie nous absorberaient encore de longs mois dont nous ne disposons pas. Et nous avons décidé d'arrêter là nos recherches.

Quoi qu'il en soit à l'heure actuelle en résumant les résultats de nos investigations, nous trouvons comme fait important pour l'histoire d'*A. blattae*, l'existence pour ce même parasite de deux espèces de kystes d'aspect et de formation tous différents et différent aussi naturellement au point de vue de leur destination. Quelle peut donc en être la signification? — Ici nous sommes obligés

d'avoir recours aux hypothèses pour répondre à cette question. Ou bien les kystes appartiennent à deux espèces d'Amibes de Blatte morphologiquement identiques entre elles; ou bien chacun d'eux représenterait un gametocyste à sexe différent. Mais l'une et l'autre de ces hypothèses sont invraisemblables. D'abord il n'y a pas d'infection où le kyste sombre ou le kyste clair existe à l'exclusion de l'autre; ces deux espèces sont toujours mélangées dans le contenu intestinal. D'autre part, comment admettre que l'infection d'une Blatte ait nécessité l'ingestion de Gamétocystes de différents sexes. Une telle coïncidence parait très problématique et n'explique pas la facilité avec laquelle ces animaux s'infectent.

Il nous reste une dernière hypothèse, qui nous parait plus fondée, c'est que les kystes sombres représentent la sporogonie donnant lieu à des gamètes qui copuleraient à l'intérieur même du kyste; dans ce cas, la fig. 21 représenterait cette période, tandis que les kystes clairs ne donneraient lieu qu'à une multiplication schizogonique ainsi que celà a lieu chez certaines Grégarines digénétiques (*Aggregata*).

Nous n'avons pas la prétention d'avoir apporté dans ce travail la solution du problème de la génération chez l'*A. blattae.* Mais il nous semble que nous avons rassemblé quelques faits nouveaux intéressants qui pourront servir d'indication pour des travaux ultérieurs. Peut être les reprendrons-nous prochainement nous-même si nos loisirs nous le permettent.

Novembre 1908.

Bibliographie.

AWERINZEW, S.: Beiträge zur Kenntnis der marinen Rhizopoden. Mitteil. d. zool. Stat. Neapel Bd. XVI 1903.

BÜTSCHLI, O.: BRONN's Klassen u. Ordn. Bd. I 1880—82.

DRZEWECKI, W.: Über vegetative Vorgänge in Kern und Plasma der Gregarinen des Regenwurmhodens. Arch. f. Protistenk. Bd. III 1904.

DOFLEIN, F.: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. V. Amöbenstudien. Arch. f. Protistenk., Festb. zum 25jähr. Prof.-Jubil. des Herrn Geh. Hofrat Prof. Dr. R. HERTWIG, 1907.

GOLDSCHMIDT, R.: Lebensgeschichte der Mastigamöben Mastigella vitrea n. sp. und Mastigina setosa n. sp. Arch. f. Protistenk., Festb. z. 25jähr. Prof.-Jubil. des Herrn Geh. Hofrat Prof. Dr. R. HERTWIG.

Hertwig, R.: Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium eichhorni. in: Abh. bayer. Akad. Wiss. Bd. XIX 1898.

—: Über die Conjugation der Infusorien. Aus den Abhandl. d. kgl. bayer. Akad. d. Wiss. Kl. II Bd. XVII Abt. I 1889.

Hartmann, M.: Praktikum der Protozoologie. in: Kiskalt u. Hartmann. Jena 1907.

Hartmann, M. u. S. v. Prowazek: Blepharoplast, Caryosom und Centrosom. Arch. f. Protistenk. Bd. X 1907.

Kuschakewitsch, S.: Beobachtungen über vegetative, degenerative und germinative Vorgänge bei den Gregarinen des Mehlwurmdarms. Arch. f. Protistenk., Festb. z. 25 jähr. Prof.-Jubil. des Herrn Geh. Hofrat Prof. Dr. R. Hertwig.

Janicki, C.: Contribuzione alla conoscenza di alcuni Protozoi parasitici della Periplaneta orientalis. Atti del reale Accad. dei Lincei Vol. XVII Fasc. 3° 1908.

Mercier, L.: La schizogonie simple chez Amoeba blattae Bütschli. Compt. rend. Acad. Sciences 1908.

Schubotz, H.: Beiträge zur Kenntnis der Amoeba blattae (Bütschli) und A. proteus (Pall.). Arch. f. Protistenk. Bd. VI 1905.

Schaudinn, F.: Kernteilung und nachfolgende Körperteilung bei Amoeba crystalligera. Sitz.-Ber. d. Akad. d. Wiss. Berlin Bd. 38 1894.

—: Über die Teilung von Amoeba binucleata. Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde zu Berlin Jahrg. 1895 Nr. 6.

—: Über den Zeugungskreis der Paramoeba Eilhardi. Sitz.-Ber. d. Akad. d. Wiss. Berlin 1896.

—: Untersuchungen über den Generationswechsel von Trichosphaerium Sieboldii. Anh. z. d. Abhandl. d. Akad. d. Wiss. Berlin 1899.

—: Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. XIX Heft 3 1903.

Scheel, C.: Beiträge zur Fortpflanzung der Amöben. Abdr. a. d. Festschr. für Kupffer. Jena 1899.

Neresheimer, E.: Die Fortpflanzung der Opalinen. Arch. f. Protistenk., Festb. z. 25 jähr. Prof.-Jubil. des Herrn Geh. Hofrat Prof. Dr. R. Hertwig, 1907.

Explication de la Planche.

Planche XI.

Fig. 1—9. Differentes formes du noyau de l'*Amoeba blattae* constituant une série de modifications au stade vegetatif.

Fig. 10. Amibe en voie de s'enkyster; son volume est réduit mais la capsule gélatineuse n'est pas encore formée. Kyste sombre.

Fig. 11—13. Trois jeunes kystes (sombres) où le noyau principal vient d'éclater, donnant lieu à un réseau chromidial à l'intérieur duquel se produisent des noyaux secondaires.

Fig. 14. Kyste sombre en une période plus avancée que la précédente.

Fig. 15. Un Amibe au stade végétatif dont le noyau vient de se diviser; les deux noyaux filles n'ont pas encore repris leur forme normale.

Fig. 16. Amibe se préparant à s'enkyster.

Fig. 17. Une période plus avancée que la précédent.

Fig. 18. La même période que la précédent; le noyau prêt à se diviser.

Fig. 19. Kyste clair, après la division de son noyau.

Fig. 20. Kyste clair avec deux fuseaux nucléaires.

Fig. 21. Kyste sombre avec des noyaux en fusion; leur chromatin se réduit par la formation d'un halo sémilunaire.

Fig. 22. Kyste sombre developpé, contenant de nombreux noyaux.

Fig. 23, 29. Fuseau nucléaires allongés, très ressemblants à ceux observés chez les ciliés.

Fig. 24. Kyste clair developpé.

Fig. 25—28, 30, 31. Differentes phases de l'évolution du kyste clair, avec des fuseaux en nombre variable.

Fig. 32, 33. Kyste sombre et kyste clair à l'intérieur duquels on voit des noyaux en dégénérescence et en absorption.

Le cycle évolutif d'*Amoeba blattae* Bütschli.

(Note préliminaire.)

Par
L. Mercier,
Chef des travaux de Zoologie à la Faculté des Sciences de Nancy.

(Avec 1 figure dans le texte.)

Le cycle évolutif des Amibes a été l'objet de nombreux travaux dus à Schaudinn, Hartmann, Calkins etc., mais les résultats obtenus par ces Savants ne sont pas concordants. J'ai repris cette étude avec *Amoeba blattae* Bütschli, Amibe qui vit dans le tube digestif de la Blatte, *Periplaneta orientalis* L., et je suis arrivé à des résultats qui diffèrent de tous ceux des auteurs précédents. Il serait trop long, dans une note préliminaire, de comparer leurs observations et les miennes; je me bornerai donc à un exposé succinct du cycle tel que je l'ai établi pour l'espèce en question.

I. Division.

Dans une note précédente (1908) j'ai étudié la division d'*Amoeba blattae*; j'ai insisté en particulier sur le mode de division du noyau qui participe à la fois de la mitose (évolution de la substance chromatique) et de la division directe (persistance de la membrane nucléaire, absence de fuseau achromatique). La division assure la multiplication endogène du parasite; mais, au bout d'un certain temps, ce processus conduit à l'apparition d'Amibes de petite taille (34 μ au lieu de 70 μ et même 120 μ) à cytoplasme granuleux ne

présentant plus d'enclaves nutritives et dont les noyaux montrent un appauvrissement notable en substance chromatique.

II. Enkystement.

1° Multiplication nucléaire. Ces Amibes de petite taille, aux quelles je donnerai le nom de Gamontes, sont le siège d'une multiplication nucléaire active qui se poursuit jusqu'à la constitution de huit noyaux-filles. Si la première division nucléaire s'effectue encore suivant le mode décrit précédemment il n'en est plus de même pour les divisions suivantes: la membrane nucléaire persiste toujours, mais elle s'amincit et s'étire de sorte que le noyau prend une forme ovale très allongée. En même temps, il apparait à l'intérieur du noyau une figure de mitose typique avec fuseau achromatique et centrosomes. Les chromosomes punctiformes cheminent le long des filaments fusoriaux et gagnent les pôles du noyau. Puis la membrane nucléaire se pince et un long étirement conduit à la formation des noyaux-filles.

Les divisions nucléaires ne sont pas rigoureusement synchrones, car j'ai trouvé des Amibes à 3, 5, 6 et 7 noyaux. Au fur et à mesure que de nouvelles divisions s'effectuent, les noyaux des gamontes diminuent de taille et renferment de moins en moins de chromatine de sorte que, au stade de huit noyaux, on ne trouve plus à la place de la couronne de gros caryosomes, si caractéristique que quelques petits grains chromatiques.

2° Le Kyste. C'est à ce stade, comme Janicki (1908) l'a très bien vu, que les gamontes s'enkystent généralement. Les huit noyaux se rassemblent en un groupe compact au centre du cytoplasme qui prend un aspect rayonné très caractéristique. Cet aspect me semble pouvoir être interprété comme étant en rapport avec la sécrétion de l'enveloppe du kyste; celle-ci apparait tout d'abord comme une mince pellicule, puis elle augmente progressivement d'épaisseur jusqu'à atteindre 2,5 μ.

L'enkystement n'a pas toujours lieu au stade de huit noyaux il y a des exceptions à cette règle. J'ai trouvé, en effet, des kystes jeunes à 4 et à 16 noyaux; les derniers proviennent d'Amibes libres à 16 noyaux dont Schubotz (1905) et Janicki (1908) ont déjà signalé l'existence.

Quand l'enveloppe du kyste a atteint une certaine épaisseur les noyaux se divisent. La première division est encore une mitose

avec persistance de la membrane nucléaire; elle conduit à la formation de 16 noyaux.

Ces noyaux sont épars dans le cytoplasme, aussi ce stade se laisse facilement différencier d'un stade de début de l'enkystement à 16 noyaux auquel les noyaux forment un groupe compact.

A la suite de cette première division des noyaux j'ai constaté la présence de granulations chromatiques dans le cytoplasme, mais je n'ai pas pu saisir le mécanisme de leur apparition.

La multiplication nucléaire se poursuit: les premières divisions qui suivent le stade de seize noyaux sont encore des mitoses avec persistance de la membrane nucléaire; mais, au fur et à mesure que le nombre des noyaux augmente, leur mode de division se rapproche de plus en plus d'un simple étranglement.

Les divisions ne sont pas synchrones, il est impossible de séparer des stades correspondant à un nombre de noyaux nettement défini et d'assigner une limite numérique à la division; dans certains kystes, j'ai pu compter jusqu'à 54 noyaux. Enfin, dans un même kyste, les noyaux ne sont pas tous semblables au point de vue de la taille.

III. Copulation.

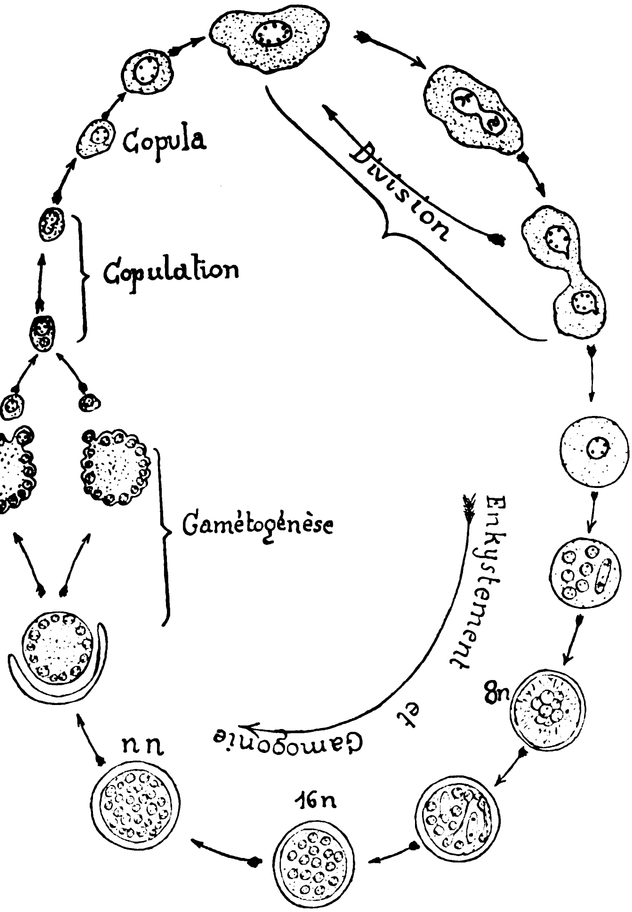
1° Ouverture des Kystes. La déhiscence des kystes n'a pas lieu dans l'intestin postérieur de la Blatte où ils se sont formés; ils sont expulsés au dehors avec les excréments. Pour que l'évolution des kystes se poursuive, il est nécessaire que ceux-ci soient absorbés par une Blatte, et c'est sous l'influence des sucs digestifs contenus dans le jabot que se produit la rupture de l'enveloppe.

J'ai pu réaliser de l'infection expérimentale et obtenir ainsi un nombre d'images suffisant pour fixer l'évolution définitive des kystes.

2° Gamétogénèse et Copulation. La première modification que l'on constate dans les kystes ingérés consiste dans l'arrangement régulier des noyaux à la périphérie du cytoplasme. Puis l'enveloppe kystique se rompt et les gamontes mis en liberté sont entraînés avec les aliments dans l'intestin postérieur.

Autour de chacun des noyaux s'individualise alors un petit territoire du cytoplasme périphérique; le gamonte prend ainsi l'aspect d'une morula. Ce stade est celui de la gamétogénèse. Les gamètes se détachent sous forme d'Amibes de très petite taille ($4\ \mu$ à $7\ \mu$); un même kyste donne des gamètes de dimensions très inégales.

Les gamètes s'accolent deux à deux, fusionnent leurs cytoplasmes et donnent ainsi naissance à des éléments binucléés. J'ai toujours constaté une différence de taille appréciable entre les deux noyaux; ce fait permet de conclure à l'hétérogamie. Mais étant donné que les gamètes issus d'un même gamonte ont des noyaux inégaux et sont de tailles inégales, il est bien difficile de dire si deux gamètes qui copulent proviennent d'un même kyste ou de deux kystes différents.



La cytogamie est suivie d'une karyogamie; les noyaux se rapprochent, s'accolent et se fusionnent. La chromatine du synkarion subit un remaniement et celui-ci présente bientôt l'aspect caractéristique du noyau de l'Amibe de la Blatte. Puis le cycle recommence.

Le schéma ci-dessus résume dans ses grandes lignes le cycle évolutif d'*Amoeba blattae.*

Remarque. J'ai déjà signalé (1907) la présence, dans le noyau d'*Amoeba blattae*, d'un parasite appartenant au genre *Nucleophaga* Dangeard. J'ai observé en outre dans le cytoplasme de certains kystes différents stades d'un nouveau parasite, qu'il faut bien se garder de mélanger avec le cycle normal de l'Amibe.

Nancy, le 10 Mars 1909.

Index bibliographique.

1905 Schubotz: Beiträge zur Kenntnis der *Amoeba blattae* Bütschli und *Amoeba proteus* Pall. Arch. f. Protistenk. Bd. VI p. 1.

1907 Mercier: Un parasite du noyau d'*Amoeba blattae* Bütschli. Compt. rend. de la Soc. de Biol. Paris T. LXII p. 1132.

1908 —: La schizogonie simple chez *Amoeba blattae* Bütschli. Compt. rend. de l'Acad. des Sci. Paris, Séance du 4 mai 1908.

1908. Janicki: Contribuzione alla conoscenza di alcuni protozoi parassiti della *Periplaneta orientalis* (*Lophomonas blattarum* Stein, *L. striata* Bütschli, *Amoeba blattae* Bütschli). Atti della Reale Academia dei Lincei-Rendiconti T. XVII F. 3 2e Semestre p. 140, Séance du 2 Août.

(Aus dem Zoologischen Institut zu Heidelberg.)

Studien über einige Choanoflagellaten.

Von
Carl Burck (Friedberg).

(Hierzu Tafel XII und 2 Textfiguren.)

Inhaltsübersicht.

I. Technisches.

Im letzten Jahr war ich mit dem Studium der Histologie einiger Hornschwämme der Adria beschäftigt. Die große Ähnlichkeit, welche die Kragenzellen der Schwämme mit den Choanoflagellaten oder Kragenmonaden (Craspedomonadina) zeigen, veranlaßte mich auf Vorschlag des Herrn Prof. O. Bütschli, diese Gruppe auf ihre Organisation und Ernährungsverhältnisse nochmals zu untersuchen.

Meine Untersuchungen beschäftigen sich mit drei Arten der Gattungen *Codonosiga* J. Cl. und *Salpingoeca* J. Cl., nämlich: *Codonosiga botrytis* Ehrbg., *Salpingoeca amphoridium* J. Cl. und *Salpingoeca vaginicola* St.

Das Material stammte zum Teil aus dem Neckar, zum Teil aus dem botanischen Garten zu Heidelberg und den Teichen im Schloßgarten zu Schwetzingen. Die Flagellaten fand ich in der Regel recht zahlreich auf Fadenalgen oder auf sehr feinen in das Wasser ragenden Wurzeln festsitzend. Auffallend war, daß *Salpingoeca amphoridium* meist in sehr vielen, dicht gedrängten Individuen nebeneinander auf langen Strecken der Algen saß. Es scheint, daß die beobachteten Formen in fauligem Wasser am besten gedeihen, weshalb es sich empfiehlt, die Kulturen nicht zu durchlüften.

Ich untersuchte die Formen zunächst lebend und ungefärbt. Intravitale Färbung mit sehr verdünntem, in dem Kulturwasser gelösten Neutralrot war nicht von Vorteil, da die Tiere wegen ihrer ungemeinen Zartheit rasch absterben. Zu Fütterungszwecken benutzte ich fein verteilten Karmin. Als Fixierungsmittel wurden ausschließlich Osmiumsäuredämpfe angewandt, indem kleine Stückchen der Algen, auf denen die Flagellaten saßen, im hängenden Tropfen 1–2 Minuten den Dämpfen ausgesetzt wurden. Die so fixierten Individuen waren sowohl in Gestalt wie Bau vorzüglich erhalten. Bei Tötung mit Alkohol schrumpfen die Individuen außerordentlich leicht. Zur Färbung benutze ich nur sehr dünne, wässerige Lösungen von Delafield's Hämatoxylin, Neutralrot, Bismarckbraun, Methylgrün-Essigsäure, und als besonders günstige Tinktion erwies sich die Schuberg'sche Dahlialösung (Gemisch von 0,3—1 g Dahlia, 15—20 ccm Essigsäure und 85—80 ccm Wasser). Alle Färbungen wurden unter dem Deckglas vorgenommen. Um die Konturen des Kragens deutlicher zu machen, behandelte ich die fixierten Tiere erst $^1/_4$ Stunde mit 2proz. Osmiumsäure und färbte nach dem Auswaschen. Zur Herstellung von Dauerpräparaten wurde stark verdünntes Glycerin tropfenweise an den Rand des Deckglases zugesetzt und erst nach allmählicher Verdunstung konzentrierteres Glycerin. Ich wiederholte dies so lange, bis die Choanoflagellaten vollständig in konzentriertem Glycerin eingeschlossen waren. Da die Algen mitunter recht dick sind, empfiehlt es sich, die dünnsten Deckgläschen zu nehmen.

II. Organisation.

Die äußere Körperform der Kragenmonaden ist von CLARK (67) schon hinreichend beschrieben worden. Seine Angaben wurden von BÜTSCHLI (78) bestätigt und durch Abbildungen erläutert. Ferner hat FRANCÉ (97) die äußere Morphologie ausführlich behandelt. Ich will daher nur hervorheben, daß bei den von mir untersuchten Arten die birnförmige Gestalt vorherrschte, welche natürlich immer etwas variieren kann. So besitzt z. B. *Salpingoeca vaginicola* eine regelmäßig länglich elliptische Form, wie Figur 10 zeigt. Eine den Salpingoeca einzureihende Kragenmonade, von eigentümlichem Bau, hatte die typische Eiform (Fig. 9).

Die Choanoflagellaten können sich kuglig kontrahieren, was besonders dann eintritt, wenn sie durch größere Infusorien beunruhigt werden.

Das Protoplasma ist deutlich wabig gebaut und enthält recht viel Körnchen. Am Geißelpol erscheint es hyaliner als im übrigen Zellkörper. An der basalen Region und in der nächsten Umgebung der contractilen Vacuolen ist das Plasma stark vacuolär, und in der Regel findet man in der Mitte der Basis eine nicht contractile Vacuole (v), die nicht selten bedeutende Dimensionen erreicht, wie dies aus den Figuren 3c und 8a (v) hervorgeht.

Strömungen im Protoplasma, wie sie FISCH beobachtet hat, habe ich, außer bei der Nahrungsaufnahme, nie gesehen. Dagegen bemerkte ich deutlich, daß bei der Nahrungsaufnahme und der Defäcation eine ziemlich lebhafte Strömung auftrat, wobei auch die bereits früher aufgenommenen Nahrungskörper ihren Platz veränderten. Daß dagegen konstante Strömungen im Zellkörper stattfinden, konnte nicht beobachtet werden. Außer den erwähnten Strömungen beobachtete ich ferner solche an geschädigten, absterbenden Tieren, eine Tatsache, die auch FRANCÉ (97) beschreibt. Auf diese Erscheinungen werde ich später zurückkommen.

Pseudopodienbildungen, wie sie SAV. KENT (81) mehrmals beobachtet haben will, habe ich bei normalen Tieren nicht gefunden. Nach ihm sollen einige Choanoflagellaten sogar amöboide Stadien durchlaufen. ZACHARIAS (94) mißt den Pseudopodien eine Bedeutung für die Nahrungsaufnahme bei und nennt sie direkt Fangorgane. Auch FRANCÉ hat mehrmals Lobopodienbildungen und zwar an verschiedenen Stellen des Zellkörpers bemerkt. Meines Erachtens kommen diese Erscheinungen nur bei geschädigten, im Absterben begriffenen Zellen vor.

Dagegen besitzt der Körper, wie schon erwähnt, ein ziemlich hohes Contractionsvermögen, indem er sich plötzlich und rasch kugelförmig zusammenziehen kann.

Außer den zahlreichen Nahrungskörpern, die im Protoplasma in sogenannten Nahrungsvacuolen unregelmäßig in geringer bis großer Anzahl eingestreut liegen, fand ich noch kleine dunkle Körnchen (Brk.), die wohl den Bütschli'schen „roten Körnchen" identisch sind, wie Lauterborn (96, p. 30) „diejenigen extranucleären Einschlüsse in Diatomeenzellen bezeichnet, die in Alkohol und Äther unlöslich, sich sowohl mit Delafield's Hämatoxylin als auch intra vitam mit Methylenblau intensiv rot-violett färben". Da diese Einlagerungen bei den von mir untersuchten Flagellaten dieselben Reaktionen zeigten, wie sie Lauterborn schildert, so glaube ich bestimmt annehmen zu dürfen, daß es sich um die „Bütschli'schen roten Körnchen", oder die sogenannten „Volutinkörner" (A. Meyer) handelt, die ja bei Flagellaten sehr verbreitet sind.

Schleimhülle. Zuerst Bütschli (78), später Fisch und Francé beschrieben bei einigen Codonosigen eine bis zur Kragenbasis reichende, hyaline, schleimige Hülle, welche dem Zellkörper dicht aufliegt und oft mit Bakterien und sonstigen feinen Körperchen besetzt ist. Diese Schleimhülle konnte ich bei allen Codonosigen beobachten und glaube auch annehmen zu dürfen, daß sie bei allen Choanoflagellaten vorkommen muß, weil ihr bei der Nahrungsaufnahme eine besondere Bedeutung zukommt, was später noch besprochen werden soll.

Diese äußerst feine Hülle (SH) erschien mir als ein glockenförmiger nach unten spitz zulaufender schleimiger Überzug mit körneliger Struktur (Figur 2). Soweit sie den Zellkörper bedeckt, liegt sie ihm dicht an und ist deshalb an ungefärbten Präparaten sehr schwierig zu erkennen. Der distale Teil der Hülle, der bis etwa über das basale Viertel oder Drittel des Kragens emporreicht, steht meist auf einer Seite des Körpers vom Kragen etwas ab, während er auf der anderen Seite ihm direkt anliegt (Fig. 3a, c, SH). Durch abwechselndes Abheben vom Kragen und Wiederanlegen an denselben, erklärt sich die von Bütschli (98, p. 224) als Empfangsvacuole bezeichnete Erscheinung, wie weiter unten genauer erörtert werden soll.

Frenzel (91) und Zacharias (94) beschrieben bei *Diplosiga* und *Diplosigopsis* um den eigentlichen Kragen einen zweiten, der mit diesem von gleicher Basis oder etwas weiter unten von dem Vorderende des Körpers entspringt. Ob nun dieser zweite Kragen nicht

etwa dem Distalende der Schleimhülle entspricht: vermag ich nicht zu entscheiden, da ich keine Diplosigen untersuchen konnte. Ich werde aber zu dieser Vermutung veranlaßt durch eine Abbildung von *Diplosigopsis Entzii* Fr., die Francé (97, p. 138) gegeben hat, wo der zweite Kragen die unmittelbare Fortsetzung des „chitingelben Gehäuses“ ist.

Der Stiel. Die Individuen der Codonosiginen sitzen fast immer auf einem Stiel. Die Länge und Dicke dieses Stieles ist sehr verschieden. Schon Bütschli (78, p. 222) bemerkte, daß die Stiele älterer Kolonien dicker sind, als die der jüngeren; daß sie sich ferner an der basalen Anheftungsstelle zu einer kleinen Haftplatte verbreitern. Ihre dunkle Wand, die eine helle, homogene Zentralmasse umschließt, läßt sie röhrenförmig erscheinen. Ich kann diese Angaben bestätigen. Auch beobachtete ich zuweilen im basalen Teil und besonders am Fuß des Stiels dunkelbraune körnige Einlagerungen (Fig. 1). Dem Apicalende des eigentlichen Stiels sitzen bei den Kolonien dünnere Stielchen auf, welche die wirklichen Träger der Individuen sind. Diese Stielchen halte ich für Ausläufer der Schleimhülle, denn sie zeigen dieselbe körnige Struktur wie die Hülle und färben sich, ebenso wie diese, mit Dahlia rot violett, während sich der eigentliche Stiel blau färbt.

Eine weitere Eigentümlichkeit beobachtete ich noch an ganz jungen Kolonien von *Codonosiga botrytis.* Ich sah nämlich bei mehreren Exemplaren zwischen den feinen Stielchen der Einzeltiere eine zarte strukturlose Membran ausgespannt, welche bis etwa zur Höhe der contractilen Vacuolen an den Zellen emporreichte (Fig. 1, m), es handelt sich hier vielleicht um die letzten Stadien der Längsteilung.

Was die Stielsubstanz angeht, so habe ich darüber keine Untersuchungen angestellt, bin aber mit Bütschli der Meinung, daß der Stiel aus umgewandeltem, d. h. chemisch verändertem Plasma besteht. Meine Ansicht stützt sich auf das verschiedene Lichtbrechungsvermögen und die Unterschiede in der Färbbarkeit der Substanz der Zellen und der des Stiels, denn der Stiel ist stärker lichtbrechend als die Zelle und färbt sich mit Dahlia bedeutend dunkler blau als die Zelle, welche durchsichtig bläulich gefärbt wurde. Das, was Francé über die Stielsubstanz bemerkt, ist unverständlich. P. 151 sagt er: „die microchemischen Reaktionen stimmen mit jenen des Körperplasmas überein“; gleich darauf bemerkt er dagegen: es läßt sich also ganz gut behaupten, daß der Stiel eine chemisch veränderte und dadurch gewissermaßen fixierte

Plasmaenergenz sei", und stellt die Frage: „welcher Art ist wohl die chemische Veränderung des Stiels?" P. 152 sagt er: „Salzsäure und Schwefelsäure ergaben keinerlei Veränderung", während bei Anwendung von Kalilauge der obere Teil des Stiels langsam zerstört wurde und „der untere festere Teil desselben gut widerstand. Diese microchemischen Befunde sprechen zugunsten dessen, daß das Plasma sich in den Stielen zu einer ‚chitinartigen' Substanz umwandelte". Francé ist also durch seine microchemischen Untersuchungen zu dem Resultat gekommen, daß die Stielsubstanz aus chemisch verändertem Plasma besteht, während er vorher behauptet, daß die microchemischen Reaktionen mit denen des Körperplasmas übereinstimmen, daß also der Stiel aus derselben unveränderten Substanz bestehe wie der Zellkörper; wofür er als einzigen Grund anführt, daß er eine Grenzlinie in der Lichtbrechung nicht gefunden hat, welche vorhanden sein müßte, wenn der Stiel aus veränderter Substanz bestehen würde. Aus dieser Darstellung Francé's ist also nicht zu entnehmen, welcher Art die Stielsubstanz ist. Das die Stielsubstanz „chitinartig" sei, läßt sich durch die von ihm mitgeteilten Reaktionen nicht begründen.

Über die Gehäuse, welche allgemein bei den Salpingoecen vorkommen, habe ich den seitherigen Beobachtungen nichts von Bedeutung zuzufügen. Ich will nur bemerken, daß Francé (97, p. 155) sagt: „Auf Grund meiner Untersuchungen gelangte ich, ebenso wie bezüglich der Stielgebilde, zu dem Resultat, daß die Gehäuse der Craspedomonaden aus einer chitinigen Substanz bestehen."

Der Kern. Die Angaben Bütschli's (83, p. 889) über den Kern kann ich bestätigen. Er sagt: „Ein einziger und kleiner Nucleus kommt den Choanoflagellaten regelmäßig zu. Derselbe liegt stets im Vorderende des Körpers in geringer Entfernung hinter der Geißelbasis. Sein Bau ist, wie bei einfachen Flagellaten, ein ausgesprochen bläschenförmiger. Stets ist er kuglig und enthält einen relativ ansehnlichen, kugligen Nucleolus, der von einer hellen Kernsaftzone umgeben ist. Bei Behandlung mit Reagentien tritt um die Kernsaftzone auch eine etwas körnelige, dunkle Hülle deutlich hervor, welche meiner Ansicht nach nicht die eigentliche Kernmembran, sondern die Kernrindenschicht ist." Später fanden Fisch und Francé im Binnenkörperchen zahlreiche Chromatinkörnchen, die nach letzterem spiralig angeordnet sind. Bei den von mir untersuchten Exemplaren fand ich ebenfalls solche Chromatinkörnchen aber nur im äußeren Umkreis des Nucleolus.

Außerdem fand ich bei einer freischwimmenden, der *Salpingoeca*

convallaria St. ähnlichen *Salpingoeca*-Art (Fig. 9), daß der Kern zuweilen auch im Zentrum des Zellkörpers liegen kann, ja sogar dicht an der Basis.

Kernteilung. Bezüglich der Kernteilung bei Choanoflagellaten ist noch wenig Sicheres ermittelt. Nach Fisch (85 p. 93) soll die Kernteilung mitotisch sein. Francé (97 p. 164) schildert sie folgendermaßen: „Dieser Vorgang (nämlich die mitotische Kernteilung, wie sie Fisch beschrieben hat), beginnt mit dem Verschwinden des Binnenkörperchens, worauf in dem Kern feine Chromatinfäden auftreten. Dieselben kommen mit der Streckung des Zellkerns in parallele Lagerung, welche auch nach der Zweiteilung des Kerns eine Zeitlang erhalten bleibt; in späteren Stadien wird das Fadennetz wieder unregelmäßig, bis die Tochterkerne die Struktur des ruhenden Kernes aufweisen.“ Francé selbst konstatierte diese Vorgänge auf Grund von Beobachtungen, die er bei der Teilung von *Lagenoeca globulosa* Fr. gemacht hat, und erläutert sie durch die Figur 27 auf p. 176, wo „ein in Teilung begriffenes Individuum dargestellt ist, dessen Kern sich eben in dem Stadium der normalen Lagerung der Chromatinfäden befindet“. Auf dieser Figur ist aber etwas derartiges nicht wahrzunehmen. Aus dieser Schilderung der Kernteilung kann man kaum eine Vorstellung von den Vorgängen bekommen.

Ich beobachtete bei *Salpingoeca amphoridium* drei Kernteilungsstadien, die ich in Figur 6 a—c abgebildet habe. Diese drei Exemplare, in denen sich die verschiedenen Kernteilungsgebilde zeigten, unterschieden sich von den übrigen Individuen durch die intensivere Kernfärbung mit Methylgrün-Essigsäure, und außerdem waren sowohl der Kragen als die Geißel bei ihnen zurückgebildet und der Kern des in das Gehäuse vollständig zurückgezogenen Tieres an das distale Körperende verlagert. Wie aus Figur 6a ersichtlich ist, bemerkt man im Kern eine deutliche Spindel, die als eine Zentralspindel aufgefaßt werden dürfte. Die Kernbilder 6 b und 6 c sind wohl Vorbereitungsstadien zur Bildung einer Zentralspindel, jedoch ohne vermittelnde Stadien nicht genügend verständlich. Eine deutliche Kernspindel wurde auch bei dem auf Figur 7 abgebildeten Individuum beobachtet, auf das ich später zurückkomme.

Contractile Vacuolen kommen bei allen Choanoflagellaten vor. Die Angaben über ihre Lage und Zahl sind außerordentlich verschieden. So beobachteten Fresenius (58), Entz (83) und Fisch (85) bei einigen Formen nur eine Vacuole; Bütschli (78) beschrieb bei Codonosigen und Salpingoecen zwei, Kent (81)

und Clark (67) wollen sogar bis fünf contractile Vacuolen beobachtet haben. Nach Francé's Untersuchungen (93) ist nur eine contractile Vacuole vorhanden. Nach meinen Beobachtungen ist die Zahl der pulsierenden Vacuolen bei den drei untersuchten Arten verschieden. Bei *Codonosiga botrytis* Ehrbg. fand ich zwei, während bei den Salpingoecen nur eine feststellbar war. Wenn zwei Vacuolen vorhanden sind, geschehen ihre Contractionen abwechselnd. Die Bildung der Vacuolen geschieht, wie schon Bütschli (78, p. 225) richtig vermutete, durch Zusammenfluß mehrerer kleineren (Fig. 5c v), die zunächst einen langgestreckten schmalen Flüssigkeitsraum bilden (Fig. 1c v), der sich erst kurz vor der Systole zu einer kugligen Vacuole abrundet. Bei der Entleerung sah Francé (p. 166) „wiederholt ein kleines Kanälchen, durch welches die Vacuolenflüssigkeit in die Außenwelt befördert wurde. „Anfangs der Systole" beobachtete er „erst einige, bald aber mehrere äußerst kleine Bläschen, welche alsbald zusammenfließen und einen ein wenig ovalen Saftraum bildeten. Zugleich erschienen zwei sehr feine Kanälchen, welche, gegeneinander divergierend, zu der sich neu bildenden Vacuole laufen und derselben Flüssigkeit zuzuführen scheinen. Diese feinen lichten Spalten sind relativ nicht lang, die eine, gegen das Vorderende verlaufende, läßt sich bis zu dem Zellkern verfolgen, die andere verschwindet im Plasma der unteren Körperhälfte." Von der Richtigkeit dieser Erscheinungen habe ich mich nicht überzeugen können.

Die Größe der contractilen Vacuolen ist bei den verschiedenen Arten sehr verschieden. Nur selten erreichen sie die Größe der an der Basis der Zelle liegenden großen, nicht contractilen Vacuole.

Auch ihre Lage variiert bei den einzelnen Arten. Bei *Codonosiga botrytis* liegen die beiden Vacuolen an den „gegenüberliegenden Leibeswandungen in der hinteren Körperhälfte, jedoch meist nicht genau in demselben Querschnitt, sondern die eine gewöhnlich etwas weiter nach vorn, ungefähr in der mittleren Körperhälfte" (Bütschli 78, p. 225). Eine fadennetzartige Struktur der Vacuolen, wie sie Francé (p. 169) beobachtet haben will, habe ich nicht sehen können.

Daß die contractilen Vacuolen zeitweise und namentlich auch bei der Teilung ganz verschwinden können, glaube ich mehrmals beobachtet zu haben.

Nahrungsvacuolen können in verschiedener Zahl und in ungleichmäßiger Verteilung im Zellkörper auftreten. Bei der Nahrungsaufnahme werde ich näher auf sie zu sprechen kommen.

Öltropfen oder sonstige Plasmaeinschlüsse, wie sie Fisch beobachtet hat, habe ich niemals gefunden. Ebensowenig be-

merkte ich „zahlreiche wenig lichtbrechende Kügelchen“, welche FRANCÉ (p. 169) als „auskristallisierte Reservesubstanzen beschreibt, die nach Beendigung des latenten Lebens wieder aufgebraucht werden.“

Die Geißel ist ein langer bis zu seinem Ende gleichmäßig dünner Faden, an welchem ich selbst bei Anwendung starker Färbungen keine Struktur zu erkennen vermochte. Ihre Länge ist bei den einzelnen Arten sehr verschieden. Bei *Codonosiga botrytis* und *Salpingoeca vaginicola* betrug sie durchschnittlich 15 μ, während die Geißel von *Salpingoeca amphoridium* 30 μ erreicht. Die Geißel (Fl) entspringt im Zentrum der Kragenbasis. Sie sitzt hier einem stark färbbaren Körperchen auf, dem Basalkörperchen oder Blepharoblast (Fig. 1, 3a—c, Bk), das rundlich bis ellipsoidisch oder auch etwas stäbchenartig erscheint. Bei *Salpingoeca amphoridium* war in der Regel ein feines Fädchen zu beobachten, das vom Basalkörperchen entsprang, und mehr oder weniger tief, bis zum Kern zog, wie es auf den Figuren 4 und 5 dargestellt ist.

Im Ruhezustand ist die Geißel meist gerade gestreckt oder nur schwach gebogen. Der Teil der Geißel, welcher innerhalb des Kragens verläuft, ist stets ganz gerade, ohne jede Biegung.

Bei der Bewegung schwingt meist nur das distale Ende der Geißel, erst bei sehr lebhafter Bewegung gerät auch der basale Teil in Schwingungen, die schraubenförmig und nicht in einer Ebene geschehen.

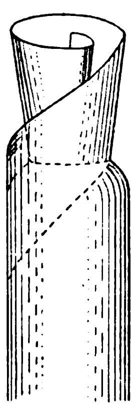
SAVILLE KENT (81) meint, daß sich die Geißel selbst im scheinbaren Ruhezustand in „lebhaft wirbelnder“ Bewegung befinde, worin ihm FRANCÉ (p. 144) beipflichtet. Ich habe eine solche Bewegung nicht wahrgenommen. Ebensowenig konnte ich mich von FRANCÉ's Angabe überzeugen, daß „die Geißeln nicht cylindrisch, sondern plattgedrückt und spiralig tordiert sind“ (p. 144).

Daß sich die Geißel in ihrer ganzen Länge in die Kragenhöhle zurückzuziehen vermag, habe ich nie beobachtet.

Der Kragen, ein den Choanoflagellaten und Kragenzellen der Spongien eigentümliches protoplasmatisches Gebilde, ist nach CLARK, STEIN, KENT und BÜTSCHLI eine vollständig geschlossene, umgekehrt kegel- bis glockenförmige, sich nach oben erweiternde protoplasmatische Membran, die dem apicalen Ende der Zelle aufsitzt. Neuere Untersuchungen von ENTZ (88), FRANCÉ (97) und EHRLICH (08) teilen keineswegs diese Ansicht über den Bau des Kragens. Die Beschreibung, welche FRANCÉ (p. 135—137) von dem Kragen-Bau gibt, durch welche er die Angaben von ENTZ bestätigt, ist leider sehr schwer verständlich. Er sagt: „Wir können uns

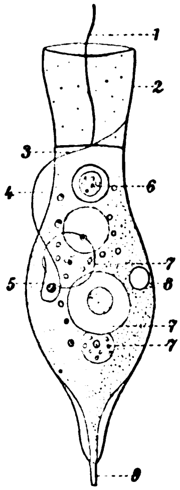
dieses eigentümliche Gebilde leicht mit Hilfe eines kleinen Papiermodells versinnbildlichen. Ein Papiertrichter, dessen Spitze an einem festen Körper — welcher den Zellenleib darstellt — befestigt ist, dessen äußeres Ende dagegen auf den festen Körper selbst aufgewunden ist, veranschaulicht uns die Verhältnisse in sehr instruktiver Weise. Wenn sich die Windungen des den Trichter bildenden Bandes lockern, sehen wir dasselbe bald weiter oben, bald unten über dem Körper hervorstehen. Wenn wir nun berücksichtigen, daß es sich in Wirklichkeit um halbflüssiges Plasma handelt, an dem es keine Ecken, sondern nur abgerundete Biegungen gibt, so ist es leicht verständlich, daß der hervorragende Teil der Plasmamembran als halbkugeliges Bläschen erscheint, welches jedermann ohne Kenntnis der tatsächlichen Verhältnisse für eine Vacuole halten muß."

Man wird zugeben, daß diese Schilderung unmöglich eine Vorstellung davon zu geben vermag, wie sich FRANCÉ den Kragenbau eigentlich denkt. Wir sind daher auf das von ihm gegebene Schema (p. 135) angewiesen, welches allein darüber aufzuklären vermag; denn auch die zahlreichen von ihm abgebildeten Choanoflagellaten zeigen, mit Ausnahme der Figur 6 auf p. 146 (*Codonosiga*), den Kragen stets als einfach trichterförmiges Gebilde, wie ihn auch die früheren Beobachter immer dargestellt haben. Aus dem erwähnten Schema (Textfig. 1) geht nun hervor, daß FRANCÉ sich den Kragen als eine in sich nicht geschlossene feine plasmatische Membran vorstellt, welche in etwa $1^1/_2$ Spiralwindungen aufgerollt ist, wobei die letzte oder äußerste halbe Windung an dem Körper etwas herabsteigt, so daß sich auch ihr freier Rand schiefspiralig herabsenkt. Die Windungen dieser Kragenmembran sollen nun gewöhnlich dicht aufeinander liegen, so daß nur bei der Nahrungsaufnahme etwas von ihnen zu sehen ist. Sie sollen sich dann „lockern" (s. obiges Zitat). Diese Lockerung der Windungen soll nun die Erscheinung der von BÜTSCHLI beschriebenen Empfangs- oder Ernährungsvacuole, die alternierend auf der einen und der anderen Seite auftritt, hervorrufen. Was er gegen die Meinung BÜTSCHLI's und die daran geknüpfte Vermutung, daß es sich um eine an der Kragenbasis den Körper umwandernde Vacuole handle, vorbringt, ist von sehr geringer Be-



Textfig. 1.
Schema des Kragenbaues nach FRANCÉ (p. 135).

deutung. So sagt er p. 137: „Wir können vor allem die Frage aufwerfen: was zwingt die angebliche Vacuole zu der Wanderung um den Körper? Warum gleitet sie nicht den Gesetzen der Schwerkraft folgend in gerader Linie nach abwärts, warum gerade in einer Spirallinie?" Fragen aufwerfen kann man natürlich viele; doch entscheidet dies nicht über die Richtigkeit einer Beobachtung oder Deutung. Was dann die Bemerkung über den Einfluß der Schwerkraft auf die Vacuole angeht, so hat diese nicht die geringste Bedeutung, da die Individuen in allen möglichen Richtungen zur Schwerkraft angeordnet sind und bei der Beobachtung in der Regel quer zu ihr stehen. FRANCÉ's Erklärung setzt voraus, daß die Lockerung der Windungen des Kragens nur an der Kragenbasis geschehen und daß diese Lockerung an der Basis um das Vorderende des Tieres herum wandere. Hierauf könnten auch wir fragen: 1. warum diese Lockerung an der Kragenbasis geschieht und nicht, wie doch natürlich wäre, an dem freien Rande der Kragenmembran; und 2. warum die Lockerung herumwandert? Hierauf hat doch FRANCÉ so wenig eine Antwort, als BÜTSCHLI für die Wanderung seiner Ernährungsvacuole.



Textfig. 2.
Codonosiga botrytis J. CL. Eine aus mehreren Zeichnungen kombinierte Figur, auf welcher der Bau des Kragens und der sogen. Schlingvacuole dargestellt ist. Nach FRANCÉ (p. 146).
1. Geißel. 2. Kragen. 3. Fortsetzung desselben (dütenförmig) zur Bildung der scheinbaren Schlingvacuole. 4 u. 5. Einsenkung am hintersten Ende der Düte mit aufgenommener Nahrung. 6 u. 7. Nahrungsvacuolen. 8. Pulsierende Vacuole. 9. Stiel.

Das einzig Positive in der Kragenfrage, welches FRANCÉ beibringt, ist also seine Beobachtung, daß von einer der Ernährungsvacuolen eine feine Linie ausgehe, welche, an dem Kragen spiralig aufsteigend, sich eine größere Strecke weit verfolgen läßt, wie er es auf Figur 6 p. 146 darstellt (Textfig. 2). Gerade diese Linie jedoch konnte ich nicht bestätigen.

Die Schilderung, welche FRANCÉ von dem Vorgang der Nahrungsaufnahme selbst gibt (p. 174), macht seine Ansicht weder klarer noch wahrscheinlicher. Er sagt: „Betrachten wir den Weg eines Nahrungspartikelchens, welches durch die Bewegungen der Geißel an die Kragenwand geschleudert wurde. Wahrscheinlich durch den hierbei erzeugten Reiz, erfolgt das Entfalten der spiraligen Kragen-

membran und zugleich gleitet das betreffende Nahrungskörperchen der Spirallinie des Entfaltens folgend abwärts. Dort, wo die Plasmamembrane außerhalb des Körpers sichtbar ist, erscheint der Bissen gleichsam in eine hervorstehende Vacuole eingeschlossen. Dies ist BÜTSCHLI's Mundvacuole. Die Plasmamembran windet sich in dem nun folgenden Stadium wieder enger um den Körper, so daß ihr unterer Rand nur wenig wegsteht und einen engen Spalt bildet, der quasi als Schlund funktioniert. Die Nahrungspartikelchen gleiten natürlich alle in diesen Spalt und drängen hier in den Körper ein. Mit dem aufgenommenen Bissen dringt zugleich ein denselben umhüllender Wassertropfen in das weiche Plasma, bildet eine zuerst halbkugelige, dann birnförmige Vacuole, die sich endlich ablöst und eine sogenannte Nahrungsvacuole bildet".

Wie wir oben sahen, sollen die Windungen der Kragenmembran sich nun basal lockern; es bleibt daher ganz unverständlich, wie die Nahrungskörperchen, die sich an der Außenseite des Kragens ansetzen, in diese basale Lockerung (resp. Ernährungsvacuole) gelangen können. Dazu gesellt sich, daß auch mir die Beobachtung stets gezeigt hat, daß die feinen Nahrungskörperchen, welche sich an die distale äußere Kragenwand angesetzt haben, stets in gerader Linie gegen die Kragenbasis herabgleiten, dagegen nicht in einer Spirallinie, wie es die FRANCÉ'sche Erklärung erfordert. Letztere setzt ferner meiner Ansicht nach voraus, daß die abwechselnd auf beiden Seiten sich bildenden sogenannten Empfangsvacuolen auf verschiedener Höhe liegen, was ebensowenig der Fall ist.

Die Darstellung EHRLICH's (08) von dem Kragenbau ist derjenigen FRANCÉ's so ähnlich, daß ich nicht näher auf sie eingehe.

Nach meinen Beobachtungen ist der Kragen der untersuchten Choanoflagellaten stets eine in sich vollkommen geschlossene Membran, die dem Apicalende der Zelle aufsitzt. Weder am lebenden, noch am fixierten Material, habe ich eine spiralig aufgerollte Kragenmembran beobachtet. An einigen mit Osmiumsäure behandelten Individuen von *Salpingoeca amphoridium*, wo die Konturen des Kragens deutlich sichtbar waren, konnte ich den Kragen mehrmals von oben sehen (Fig. 4b). Ich sah ihn hier stets als einen vollkommen geschlossenen Kreis und nicht etwa als eine Spirale, wie es sein müßte, wenn er den spiraligen oder schraubigen Bau besäße.

Die Länge des Kragens ist bei den verschiedenen Arten recht variabel. Ich fand Kragen, die 4 μ lang waren und solche, die eine Länge von 15 μ erreichten. Außerdem kann der Kragen nach oben kegelstumpfartig verengert oder becherförmig erweitert sein. Es ist

sicher, daß der Kragen imstande ist, durch Contraction sein Lumen zu vergrößern oder zu verringern, was auch schon daraus folgt, daß die im optischen Durchschnitt erscheinenden Wände eines weit geöffneten Kragens bedeutend dünner sind, als die eines engen (Fig. 3a, b). Strukturen des Kragenplasmas habe ich nicht beobachtet. Er erschien stets durchaus hyalin und homogen. Daß er klebriger Natur ist, wenigstens an der Außenfläche, folgt schon aus der Tatsache, daß sich Fremdkörper, Bakterien und Micrococcen häufig in großer Anzahl an der Außenfläche anhaften.

Eigentümlich war eine Beobachtung, die ich an *Salpingoeca amphoridium* regelmäßig machte; das basale Viertel des Kragens war nämlich, im optischen Längsschnitt betrachtet, an der linken und rechten Seite immer etwas verdickt. Meiner Meinung nach, handelt es sich hier um die oben erwähnte Schleimhülle, die sich dem Kragen dicht anlegt und welche, wie wir gleich sehen werden, bei der Nahrungsaufnahme eine besondere Bedeutung hat (Figuren 4a, 5, 10).

III. Nahrungsaufnahme.

Die Nahrungsaufnahme der Choanoflagellaten ist vielfach und zwar in recht abweichender Weise beschrieben worden. Bütschli (78, p. 224) schildert sie folgendermaßen: „Die durch die Geißel in Bewegung gesetzten Partikelchen, Körnchen verschiedener Art (Bakterien, Micrococcen usw.), sieht man sehr häufig an die Außenfläche des Kragens geraten, wo sie kleben bleiben; gelegentlich sah ich die ganze Außenfläche des Kragens mehr oder weniger mit solchen Partikelchen beklebt. Allmählich sieht man nun dieselben an dem Kragen hinabrücken; kommen sie nun mit der „Ernährungsvacuole“ in Kontakt, so werden sie von derselben aufgenommen und als Nahrung dem Körper einverleibt.“ Nach Kent (81) gelangen die Nahrungskörperchen durch die Geißelschwingungen an die Außenseite des Kragens. Durch die Strömungen im Plasma des Kragens sollen sie hierauf auf dessen Innenfläche befördert werden, wo sie dann an jedem beliebigen Punkte des Kragenbodens in das Zellplasma aufgenommen würden.

Die Francé'sche Erklärungsweise von der Nahrungsaufnahme wurde schon oben geschildert.

Meine Beobachtungen über die Nahrungsaufnahme bei *Codonosiga botrytis* lassen den Vorgang etwas abweichend erscheinen. Zwar ergibt die Beobachtung, daß die Schilderung, welche Bütschli von der Nahrungsaufnahme gab, sich als völlig zutreffend mit dem erweist, was sich am lebenden Tiere sehen läßt. Die durch Präparation und Färbung nachgewiesene Schleimhülle um den basalen Teil des Kragens läßt jedoch den Vorgang etwas anders deuten. Die von Bütschli geschilderten Empfangsvacuolen sind keine eigentlichen Vacuolen, sondern entstehen dadurch, daß sich die Schleimhülle periodisch von dem Kragen abhebt. Ich will versuchen mittels der Figuren 3a—c den Vorgang der Nahrungsaufnahme, wie ich ihn vielmals beobachtete, zu schildern. Auf Figur 3a ist die Außenseite des Kragens mit feinen Nahrungskörperchen besetzt. Diese rücken allmählich basalwärts. Wenn sich die Hülle auf der einen Seite des Kragens abhebt, geraten die Nahrungspartikel, d. h. in der Regel nur einer, zwischen die Zelloberfläche und die Hülle. Legt sich nun die Hülle wieder an den Kragen an, so erscheint der Nahrungskörper wie in eine Vacuole (ev) eingeschlossen. Diese „Vacuole“ rückt nun abwärts (Fig. 3b—c), die Nahrung immer mit sich führend. An einer geeigneten Stelle des Körperplasmas mehr oder weniger entfernt von der Kragenbasis, wird der Nahrungskörper aufgenommen, wo er, in einer wirklichen Vacuole eingeschlossen, in der Regel mit ziemlicher Geschwindigkeit in das Innere der Zelle vordringt und eine starke Strömung im Protoplasma verursacht. Nicht selten fließt diese Nahrungsvacuole mit der großen, an der Basis liegenden nicht contractilen Vacuole zusammen. Das allmähliche Herumwandern der anscheinend an der Kragenbasis auftretenden Empfangsvacuole dürfte sich sehr wahrscheinlich dadurch erklären, daß die lokale Abhebung der Hülle langsam um die Kragenbasis herumläuft. Nur auf diese Weise läßt es sich verstehen, daß man bei allen Exemplaren stets abwechselnd auf der einen und der anderen Seite diese Abhebung, resp. die sogenannte Empfangsvacuole, auftreten sieht. Da die Individuen sich in den verschiedensten Stellungen befinden, so ließe sich dieses Verhalten nicht begreifen, wenn die Abhebung nur auf zwei entgegengesetzten Stellen aufträte. Nur wenn die abgehobene Stelle der Schleimhülle im optischen Durchschnitt zur Ansicht gelangt, ist sie überhaupt erkennbar. Bei der Ansicht in der Fläche läßt sie sich nicht wahrnehmen. Darauf beruht es, daß die sogenannten Empfangsvacuolen stets abwechselnd an beiden Seiten der Kragenbasis auftreten.

Am lebenden Individuum läßt sich der freie Rand der Schleimhülle nicht erkennen, ebensowenig wie der freie Kragenrand. Deshalb erscheint es hier, als wenn sich eine freie Lamelle an der Kragenbasis erhebe, die ursprünglich kurz ist und sich später nach hinten gegen die Basis des Tiers verlängert. Sie hat dann stets die Beschaffenheit, wie auf den Figuren 3a und c angedeutet ist, d. h. an ihrer Basis erscheint sie dunkler und dicker, während die Fortsetzung so zart ist, daß sie nur schwierig wahrgenommen wird.

Aus dem Geschilderten geht hervor, daß ich die Darstellung, welche Francé von der Nahrungsaufnahme gibt, in keiner Weise für zutreffend halten kann. Dies gilt ebenso von der Deutung, welche er und Ehrlich von den sogenannten Empfangsvacuolen Bütschli's geben, was bereits oben dargelegt wurde.

IV. Defäcation.

Bezüglich der Defäcation bin ich derselben Meinung wie Clark und Bütschli, welche die Ausscheidung von Nahrungsresten dicht neben der Geißelbasis innerhalb des Kragens beobachteten. Ich bemerkte, daß der auszuscheidende Körper, welcher sich in einer Vacuole befand, mit großer Geschwindigkeit nach der bezeichneten Stelle der Oberfläche befördert wurde, was eine Strömung im Protoplasma bewirkte, so daß die verschiedenen Plasmaeinschlüsse ihren Platz änderten. Wenn die Vacuole am Boden des Kragens angelangt ist, erhebt sich das Plasma hügelartig. Die Vacuole platzt und ihr Inhalt wird entleert (Fig. 5, Nv). Hierauf sinkt das Plasma wieder zu seiner ursprünglichen Form zurück. Eine Entleerung der Ingesta an jedem beliebigen Punkt der Zelloberfläche, wie sie Fisch annimmt, ist daher jedenfalls unrichtig.

V. Teilungserscheinungen.

Sichere Teilungserscheinungen habe ich nicht beobachten können, glaube aber, da nach Kent, Fisch, Bütschli und Francé neben der gewöhnlichen Längsteilung auch eine Querteilung vorkommen kann, eine solche an *Salpingoeca amphoridium* bemerkt zu haben. In dem

Gedanken, daß das auf Figur 7 abgebildete Individuum von *Salpingoeca amphoridium* in Teilung begriffen sein könnte, wurde ich bestärkt durch eine deutliche Kernspindel, die in den distalen Teil des außerhalb des Gehäuses befindlichen Teile des Zellkörpers liegt. Andere Anhaltspunkte für den Beweis, daß es sich hier um eine wirkliche Querteilung und nicht etwa um eine pathologische Veränderung eines in Längsteilung begriffenen Tiers handele, habe ich leider nicht. Auffallend war der Geißelstumpf (Fl), und daß der im Gehäuse befindliche Teil des Zellkörpers mehr plasmatische Einschlüsse enthielt als der außerhalb liegende. Außerdem fehlten Vacuolen.

VI. Pathologische Erscheinungen.

Zum Schlusse will ich noch einiger Beobachtungen gedenken, die ich an absterbenden Salpingoecen häufig machte und in Figur 8a, b abgebildet habe.

Das Plasma des Vorderendes quoll sichtlich zu einer homogenen schwach lichtbrechenden Masse auf, welche anfänglich das Lumen des Kragens mehr oder weniger erfüllte und die Geißel trug (Fig. 8a, AP). Mit dem Fortschreiten dieses Quellungsprozesses ging schließlich der Kragen völlig ein, d. h. er wurde in das immer stärker quellende Plasma eingezogen, wogegen sich die Geißel erhielt. Das hervorgequollene Plasma führte ziemlich lebhafte amöboide Bewegungen aus (Fig. 8b, AP). Nach relativ kurzer Zeit starben dann die Zellen ab. Ich halte es für wahrscheinlich, daß die von KENT und FRANCÉ geschilderte Pseudopodienbildung bei Choanoflagellaten ebenfalls solche pathologische Vorgänge waren, wie die von mir soeben geschilderten.

Vorliegende Untersuchung wurde im zoologischen Institut zu Heidelberg angestellt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor BÜTSCHLI für sein großes Interesse und seine Unterstützung bei der Arbeit meinen innigsten Dank auszusprechen.

Heidelberg, im November 1908.

VII. Literaturverzeichnis.

1878 BÜTSCHLI, O.: Beiträge zur Kenntnis der Flagellaten und einiger verwandter Organismen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 30 p. 205-281 Taf. XII—XV.

1883 —: Protozoa. II. Abt. Mastigophora. II. Unterabt. Choanoflagellata. p. 877—905.

1867 CLARK, J.: On the Spongiae ciliatae as Infusoria flagellata, or observations on the structure, animality and relationships of Leucosolenia botryoides BOWB. Memoirs of the Boston soc. nat. hist. Vol. I p. 305—340.

1908 EHRLICH, R.: Ein Beitrag zur Frage von der Membran der Choanoflagellaten. Biol. Centralbl. Bd. 28 p. 117—120.

1883 ENTZ, G.: A tordai és szamosfalvi sóstavakostoross (Flagellata). („Termíszetiajzi Füzetek" VII K. 1883 p. 46—105 Tab. III, IV.

1886 —: Tanulm. avéglények köreböl. I. Budapest.

1885 FISCH, C.: Untersuchungen über einige Flagellaten und verwandte Organismen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 42 p. 47—125 Taf. I—IV.

1893 FRANCÉ, R.: Über die Organisation der Choanoflagellaten. (Vorl. Mitteil.) Zool. Anz. p. 1—3.

1897 —: Der Organismus der Craspedomonaden. Budapest.

1891 FRENZEL, J.: Über einige merkwürdige Protozoen Argentiniens. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 53 p. 334—360 Taf. XVII.

1858 FRESENIUS, G.: Beiträge zur Kenntnis mikroskopischer Organismen. Abh. der Senckenb. naturf. Ges. Frankfurt Bd. II p. 211—242.

1881 KENT, S.: A manual of the Infusoria. London I K. 1880—81, II K. 1881—82.

1896 LAUTERBORN, R.: Untersuchungen über Diatomeen. Leipzig.

1878 STEIN, FR.: Der Organismus der Infusionstiere. III. Abt. Leipzig.

1894 ZACHARIAS, O.: Forschungsberichte aus der biologischen Station zu Plön. 2. Teil. Berlin.

VIII. Tafelerklärung.

Tafel XII.

Gemeinsame Bezeichnungen.

AP	= ausgetretenes gequollenes Plasma.	*n*	= Zellkern.
Bk	= Basalkörperchen.	*Nk*	= Nahrungskörper.
Brk	= Bütschli'sche rote Körperchen.	*nucl*	= Nucleolus.
Col	= Kragen.	*Nv*	= Nahrungsvacule.
cv	= contractile Vacuole.	*SH*	= Schleimhülle.
F	= Fuß.	*St*	= Stiel.
Fl	= Geißel.	*v*	= nicht contractile Vacuole.
Gh	= Gehäuse.		

Fig. 1—3. *Codonosiga botrytis* (Ehrbg.).

Fig. 1. Kolonie aus zwei durch eine Art Membran (*m*) verbundenen Individuen. Dahliafärbung. Vergr. 1200 : 1.

Fig. 2. Schleimhülle mit körniger Struktur und anhaftenden Bacterien (*Bact*). Bismarckbraun. Vergr. 1200 : 1.

Fig. 3a—c. Verschiedene Stadien der Nahrungsaufnahme. Neutralrot. Vergr. 1200 : 1. a) Ein Nahrungskörper (*Nk*) wird in die Schleimhülle (*SH*) aufgenommen. b) Die Schleimhülle legt sich an den Kragen an. Der Nahrungskörper (*Nk*) rückt basalwärts und ist in die „Ernährungsvacuole" (*ev*) eingeschlossen.
c) Die Schleimhülle hebt sich an der entgegengesetzten Seite des Tieres ab. Der Nahrungskörper befindet sich bereits im basalen Drittel der Zelle, wo er ins Innere aufgenommen wird.

Fig. 4—8. *Salpingoeca amphoridium* J. Cl.

Fig. 4a. Individuum nach dem Leben gezeichnet. Vergr. 1500 : 1.

Fig. 4b. Individuum von oben gesehen zur Darstellung der geschlossenen Kragenmembran (*Col*). Hämatoxylin. Vergr. 1500 : 1.

Fig. 5. Individuum im Augenblick der Defäcation. Dahlia. Vergr. 1500 : 1.

Fig. 5a—c. Drei Kernteilungsfiguren. Methylgrün-Essigsäure. Vergr. 1500 : 1.

Fig. 7. Vermutlich eine Querteilung. Dahlia. Vergr. 1500 : 1.

Fig. 8a—b. Absterbeerscheinung nach dem Leben gezeichnet. Vergr. 1500 : 1. a) Anfangsstadium. b) Vorgerückteres Stadium. *AP* ist amöboid.

Fig. 9. Freischwimmende *Salpingoeca*-Art. Dahlia. Vergr. 800 : 1.

Fig. 10. *Salpingoeca vaginicola* St. Neutralrot. Vergr. 800 : 1.

Über das Eindringen von *Lankesterella spec.* in die Froschblutkörperchen.

Von
Eugen Neresheimer (Wien).

(Hierzu 16 Textfiguren.)

Im Sommer 1908 starben in der biologischen Versuchsstation zu München eine Anzahl Frösche rasch hintereinander ab, und meine dortige Kollegin Frl. Dr. M. Plehn beabsichtigte, die Todesursache festzustellen. Im Verlaufe dieser Untersuchungen fand sie mehrere dieser Frösche infiziert mit verschiedenen blutbewohnenden Protozoen und hatte die Liebenswürdigkeit, mich auf dieses Material — wenige Exemplare von *Trypanosoma rotatorium* und sehr viele Exemplare einer *Lankesterella*-Art — aufmerksam zu machen. An dem Blute des einzigen, von der ganzen Zucht noch am Leben gebliebenen Frosches machten wir gemeinsam einige Beobachtungen am lebenden Objekt, während Frl. Dr. Plehn mir dann das ganze — nicht sehr reichliche — fixierte Material zum Studium überließ, wofür ich ihr auch an dieser Stelle herzlich danke. Da ich in der Folge kein Ergänzungsmaterial mehr erhielt, und da jetzt äußere Verhältnisse mir nicht gestatten, die begonnenen Studien in absehbarer Zeit fortzusetzen, möchte ich hier die damals festgestellten Tatsachen mitteilen, da ich annehme, daß sie von allgemeinem Interesse sein dürften.

Es handelt sich um das Eindringen von *Lankesterella* in die Erythrocyten. Über den Vorgang des Eindringens von Blutparasiten in die Blutkörperchen liegen in der Literatur sehr wenig genaue

Angaben vor. Ausführlich beschreibt Schaudinn[1]) das Eindringen der Sporozoiten von *Plasmodium vivax* (p. 206 f.) und bildet es in Fig. 15 a—h, Taf. IV ab. Es erfolgt durch Bohrbewegungen von seiten des Parasiten, unter abwechselnder Zuspitzung und Verdickung des Vorderendes. Der Vorgang, bei dem, nach der ganzen Schilderung Schaudinn's zu schließen, der Sporozoit sich ganz beträchtlich anstrengen muß, dauert etwa 40 bis 60 Minuten (unter dem Deckglas bei 36—37° C). Prinzipiell ebenso erfolgt das Eindringen der etwas anders gestalteten Merozoiten (p. 222 f., Fig. 24 a—f, Taf. IV). Bei den Trypanosomenformen von *Haemoproteus noctuae* Celli u. Sanfelice handelt es sich nicht um ein eigentliches Eindringen in den Erythrocyten, sondern nach Schaudinn's Schilderung[2]) legen sich die Parasiten an das Blutkörperchen an, sinken unter Verlust der Geißel etwas in dieses ein, verlassen es aber nach einer gewissen Zeit wieder, um dieses Spiel mehrmals an verschiedenen Erythrocyten zu wiederholen.

Für *Lankesterella* selbst (= *Drepanidium*) existieren zwar einige Angaben, die aber, wie sich aus meinen Beobachtungen ergeben wird, entweder auf ungenauer Beobachtung oder auf Kombination beruhen. Gaule[3]) beschreibt, wie sie „im Spiel“ sich in Erythrocyten einbohren, um sie gleich wieder zu verlassen. Wenn er derartiges beobachtet hat, so kann es nur an ganz abnormalem Material geschehen sein.

Wasiliewski[4]) spricht von *Drepanidium ranarum* Lank. und *monilis* Labbé, daß man oft die Froschblutkörperchen mit seinem stachelförmig zugespitzten Ende durchbohren sehe; es ist aber aus seiner Schilderung nicht zu ersehen, ob er selbst diese Beobachtungen gemacht hat. Billet[5]) schreibt: „ils attaquent les globules, les traversent de part en part.“ Genauere Angaben über diesen Vorgang sind mir nicht bekannt geworden.

Frl. Dr. Plehn und ich haben ihn mehrfach am frisch aus dem Frosch entnommenen lebenden Material beobachtet. Wir fanden die

---

[1]) Studien über krankheitserregende Protozoen. II. Plasmodium vivax (Grassi u. Feletti), der Erreger des Tertianfiebers beim Menschen. in: Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 19 1903.

[2]) Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochaete. Ibid. Bd. 20.

[3]) Über Würmchen, welche aus Froschblutkörperchen auswandern. in: Archiv f. Anat. u. Physiol. Psysiol. Abt. 1880.

[4]) Sporozoenkunde. Jena 1896.

[5]) Sur le Trypanosoma inopinatum de la grenouille verte d'Algérie et sa relation possible avec les Drepanidium. in: Compt. rend. soc. biol. Vol. 56 1904.

Blutkörperchen sehr reichlich infiziert, zwei Parasiten in einer Wirtszelle waren durchaus nichts seltenes; selbst drei oder vier wurden öfters konstatiert. Billet (l. c.) hat selbst fünf Exemplare in einem Erythrocyten gefunden. Zwischen den Blutzellen fanden sich nicht wenige freischwimmende Exemplare. Ihre Fortbewegungsart erinnert an die der Gregarinen; ohne peristaltische Bewegungen oder Schlängelungen, ohne nachweisbare Geißel gleiten sie ruhig und ziemlich langsam durch das Blutplasma dahin, vermögen auch spontan eine andere Richtung einzuschlagen, umzukehren oder still zu stehen. So zogen sie oft lange zwischen den Blutkörperchen dahin, ohne Neigung zu verraten, in eines einzudringen, bis sich plötzlich ein höchst merkwürdiges Schauspiel darbot. War die *Lankesterella* einem bestimmten Blutkörperchen auf eine Entfernung nahe gekommen, die ungefähr ihrer eigenen Länge entsprach, so begann plötzlich der bisher starre und unbewegliche Erythrocyt an der dem Parasiten zugekehrten Kante eigentümliche Bewegungen auszuführen. Zuerst war es wie ein leichtes Zittern oder Wallen, das aber rasch sich zu deutlichen amöboiden Bewegungen steigerte: der ganze Rand auf dieser Seite des Blutkörperchens verlor seine scharfe Kontur und wurde unregelmäßig lappig. Mit zunehmender Annäherung des Parasiten wurde die Bewegung geordneter: die mehrfachen kleinen Erhebungen des Stromas zogen sich zu zwei langen Pseudopodienähnlichen Fortsetzungen zusammen, die sich der *Lankesterella* entgegenstreckten und zwischen sich eine tiefe Bucht bildeten, in die das Tierchen hineinschwamm. Hatte sie mit dem Vorderende sich in diese Bucht begeben, so begannen die beiden Fortsätze sich ihr zu nähern, schmiegten sich an sie an und umfaßten sie genau so, wie die Pseudopodien einer Amöbe ein Nahrungsteilchen umfassen. Und so wie diese zog das Blutkörperchen den Parasiten in sich hinein, so daß man den Eindruck hatte, daß der Parasit, wenn er erst halb eingedrungen ist, selbst nichts mehr zu leisten hat, sondern ganz passiv vollends in die Wirtszelle aufgenommen wird. Kaum ist dies geschehen, so schließt sich hinter ihm und über ihm das Plasma des Blutkörperchens zusammen, die Unebenheiten der Kontur verstreichen und der Erythrocyt hat wieder seine völlig normale Form angenommen. In ihm, zunächst hart an der Oberfläche, später etwas mehr ins Innere rückend, liegt die Schmarotzerzelle. Der ganze Vorgang nimmt kaum mehr wie eine oder zwei Minuten in Anspruch und erinnert fast an die Vorgänge bei der Befruchtung der Metazoen, wenn das Ei dem Spermatozoon den Empfängnishügel entgegenschickt.

Natürlich haben wir nicht gleich das erstemal den Vorgang so wie hier geschildert, von Anfang bis zu Ende lückenlos beobachtet, sondern das erste, was uns auffiel, war ein Parasit, der sozusagen von der Wirtszelle mit offenen Armen aufgenommen wurde, und das daran anschließende Wiedernormalwerden der Form der Blutzelle. Als wir aber daraufhin die frischen Präparate länger und eingehender beobachteten, gelang es uns, wie gesagt, den Vorgang wiederholt mit aller Sicherheit von Anfang bis zu Ende zu verfolgen. Fig. A 1—6 soll seinen Verlauf schematisch illustrieren.

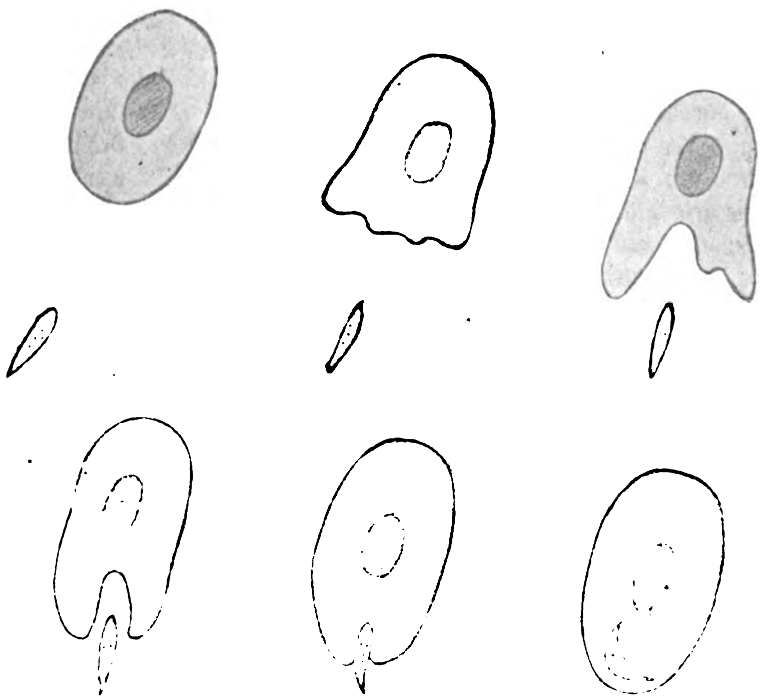


Fig. A 1—6.

Von demselben Material wurden eine Anzahl von Ausstrichpräparaten angefertigt und nach Giemsa gefärbt. Das Resultat der Färbung war insofern nicht günstig, als die Struktur und die Kernverhältnisse der *Lankesterella* nicht deutlich zur Darstellung kamen. In den Parasiten wurden nur eine wechselnde Anzahl kleinerer und größerer Granula violett gefärbt. Ich habe deshalb nicht feststellen können, um welche Art der Gattung *Lankesterella* es sich handelt. Da aber diese Frage sowie das Studium der Kernverhältnisse für

den Punkt, um den es sich hier handelt, irrelevant sind, habe ich auf eine nachträgliche Umfärbung der Präparate verzichtet.

Die einzelnen Stadien der hier beschriebenen Vorgänge im gefärbten Präparat wieder aufzufinden war nicht leicht, denn sie waren wesentlich seltener, wie ich nach dem Studium am lebenden Objekt erwartet hatte. Das ist aber nicht weiter zu verwundern; denn es läßt sich leicht vorstellen, daß beim Ausstreichen und beim Eintrocknen die meisten Lankesterellen gerade in den ersten, wichtigsten Stadien von dem zugehörigen Erythrocyten, den sie ja noch gar nicht berühren, fortgerissen werden. Man findet daher Blutkörperchen in den charakteristischen amöboiden Stadien im Präparat nicht selten, aber meist ohne Lankesterellen (Fig. B 4).

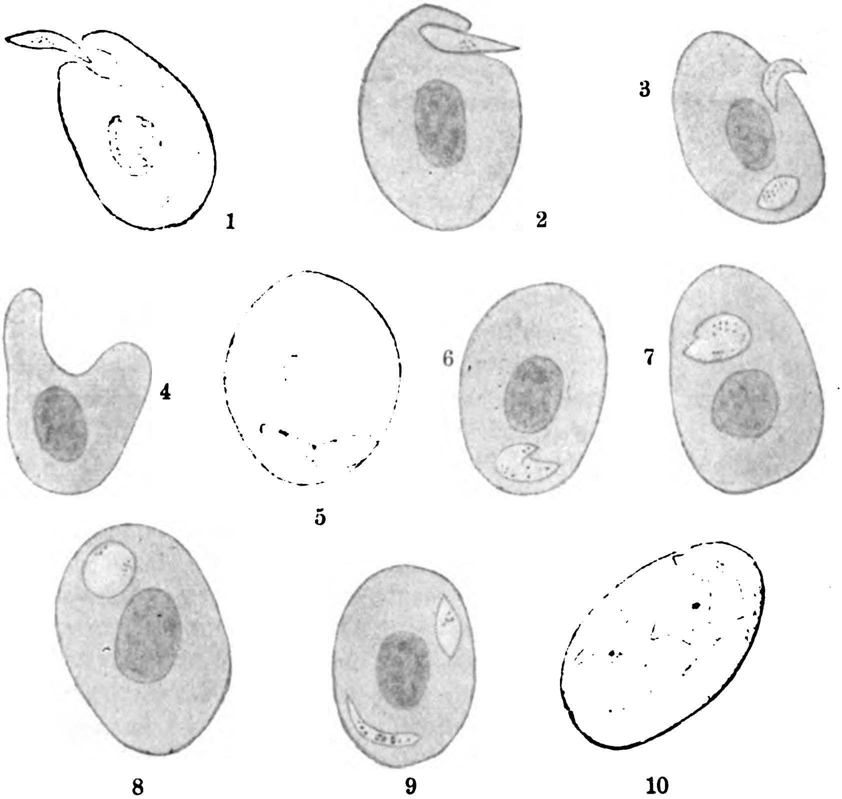


Fig. B 1—10.

Verschiedene Stadien, nach Giemsa-Präparaten mit dem Abbe'schen Zeichenapparat in Objekttischhöhe gezeichnet. Vergr.: Zeiss Apochr. Immers. 2 mm, Comp.-Oc. 6. Tubuslänge 160. 1, 2, Stadien des Eindringens in das Blutkörperchen. 3, austretender Parasit? 4, amöboider Erythrocyt. 5—9, Umformung des Parasiten nach dem Eindringen. 10, ein Blutkörperchen mit vier Parasiten.

Aber Fig. B 1 zeigt ein glücklich erhalten gebliebenes Bild dieser Art, in dem der Parasit in die ihm geöffnete Bucht des Blutkörperchens hineinschwimmt, ohne aber bisher die Wirtszelle an irgend einem Punkte zu berühren. Fig. B 2 zeigt ein etwas weiter vorgeschrittenes Stadium, das aber die Deformation des Erythrocyten noch gut erkennen läßt.

Fig. B 3 scheint mir eher einen aus dem Blutkörperchen auswandernden Schmarotzer darzustellen, eben wegen der glatten Kontur der Wirtszelle. Doch habe ich den Vorgang des Austretens nicht am lebenden Objekt verfolgt.

Fig. B 5—9 zeigt das weitere Verhalten der *Lankesterella* in der Wirtszelle. Nachdem sie einige Zeit in etwa mondsichelförmiger Gestalt nahe der Peripherie liegen geblieben ist (9 unten), beginnt sie sich in der Mitte einzuknicken (5). Die beiden spitzen Enden nähern sich einander immer mehr (6), während die aneinander gelegten Flächen offenbar miteinander verschmelzen (7). Die Spitzen verstreichen und das ganze Gebilde wird kugelförmig (8), später wandelt sich diese Form in die einer dicken, zweispitzigen Spindel um (9 oben). Die jedenfalls darauf folgende Schizogonie kam nicht mehr zur Beobachtung.

Die hier beschriebenen Vorgänge beim Eindringen in die Wirtszelle sind jedenfalls prinzipiell verschieden von den von SCHAUDINN für *Plasmodium* festgestellten und stehen, soviel ich weiß, bisher ohne Analogon da. Ich glaube, daß sie nicht anders zu erklären sein werden, als durch eine schon auf gewisse Entfernung hin merkbare, wohl chemische Einwirkung des Parasiten auf die Wirtszelle, die für kurze Zeit deren Oberflächenspannung an der betroffenen Stelle verändert. Die Tatsache aber, daß die Lankesterellen oft an vielen Blutkörperchen vorbeischwimmen, und zwar nahe genug, ohne sie aber irgendwie zu alterieren, und daß sie dann plötzlich irgend eine beliebige Zelle attackieren und in sie aufgenommen werden, gleichsam wie wenn sie eine Auswahl unter vielen getroffen hätten, diese Tatsache läßt zwei Deutungen zu. Entweder befinden sich die einzelnen Blutkörperchen in verschiedenen Zuständen; das eine ist für die Infektion „disponiert“, das andere ist immun. Das würde die Erscheinung erklären, daß man einzelne Blutkörperchen mit zwei, ja vier oder fünf Parasiten sieht, während ringsumher viele intakt sind. Trotzdem glaube ich aber, daß dies ein Zufall ist und daß es vom Parasiten abhängt, ob er das Blutkörperchen angreift oder nicht, daß er gleichsam sich die chemische Substanz, die auf die Wirtszelle einwirken wird, erst bereiten muß, bevor er

sie gegen ein Blutkörperchen „ausspritzt“, um mich grob auszudrücken.

Welche Schlüsse sich aus meinen Beobachtungen auf die Struktur der Erythrocyten ziehen lassen, das zu entscheiden muß Forschern überlassen bleiben, die mit diesen Problemen vertrauter sind. Es wäre natürlich sehr wichtig gewesen, ein Blutkörperchen während der beschriebenen Aktion von der Kante aus beobachten zu können, um das Verhalten des sogenannten Randstreifs feststellen zu können, jedoch ist mir dies leider nicht gelungen.

Wien, Januar 1909.

Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen.

III. Über die Sporocysten der Cölom-Monocystideae.

Von
Valentin Dogiel.
(Zootomisches Institut der Universität St. Petersburg.)

(Hierzu 7 Textfiguren.)

Schon vor drei Jahren bin ich gelegentlich der Untersuchung der Gregarine *Urospora sipunculi* KÖLL. und dem Studium ihrer Sporocysten zu der Überzeugung gelangt, daß der Bau derselben den bei LÉGER (9) im Jahre 1892 angeführten Abbildungen nicht entspricht und zu gleicher Zeit eine große Übereinstimmung mit dem Bau der von mir im Jahre 1906 beschriebenen *Cystobia chiridotae* (6) aufweist. Durch diese, sowie einige andere Tatsachen bin ich zu nachstehenden Betrachtungen veranlaßt worden.

Vor allem muß bemerkt werden, daß der Bau der äußeren Sporocystenanhänge, obgleich deren Gestalt und Charakter ein für die Gregariniden äußerst wichtiges systematisches Merkmal abgibt, beruht doch die ganze Klassifikation der Gregariniden [1]) auf demselben, dennoch augenscheinlich nur sehr oberflächlich untersucht worden ist, indem wir selbst bei einem auf diesem Gebiete so wohlerfahrenen Autor, wie LÉGER, auf Fehler stoßen; außerdem tragen auch schon die Beschreibungen des Baues der Sporocysten einen rein zufälligen Charakter. Ein jeder Autor beschreibt die Sporocysten der von ihm untersuchten Gregarinenarten, ohne dieselben

---

[1]) LÉGER (9), WASSILIEWSKY (13), LABBÉ (8), DOFLEIN (5).

eingehender mit den Sporocysten der anderen Arten zu vergleichen, oder aber er stützt sich bei der Vergleichung auf die Zeichnungen anderer Autoren, nicht aber auf eigene Beobachtungen. Es rührt dies alles daher, daß der Bau der Sporocysten bisher noch nicht den Gegenstand spezieller Untersuchungen gebildet hat. Und doch können irgendwelche allgemeine und mehr oder weniger richtige Schlußfolgerungen nur durch die unmittelbare Vergleichung einer ganzen Reihe von Formen gewonnen werden, wobei dies unbedingt durch ein und denselben Autor zu geschehen hat. Zusammenstellungen, bei welchen der Autor gezwungen ist, blindlings ausschließlich fremde, äußerst verschieden geartete Beobachtungen zu verwenden, haben naturgemäß die gröbsten Fehler zur Folge, was auch aus der Übersicht von LABBÉ (8) zu ersehen ist, wo z. B. bei den Gregarinida Acephalina (im gegebenen Falle habe ich nur diese allein im Auge) in einer Gattung häufig die heterogensten Formen vereinigt werden, welche nichts miteinander gemein haben, und umgekehrt wiederum die einander am nächsten stehenden Formen in verschiedenen Gattungen untergebracht werden.

Meine zweite Betrachtung bezog sich darauf, daß die Sporocysten der meisten Monocystidea (Acephalina LABBÉ) ihrem Bau nach miteinander viel mehr übereinstimmen, als dies bis jetzt angenommen worden ist. Sowohl diese Annahme (von deren Richtigkeit ich durch die im Jahre 1907 erschienene Arbeit von CUNNINGHAM über *Kalpidorhynchus* noch mehr überzeugt worden bin), als auch die vorhergehende haben sich durchaus bestätigt.

Alle im Cölom lebenden Formen der *Monocystidea* können in zwei durch den Bau ihrer Sporocysten scharf voneinander abgegrenzte Gruppen eingeteilt werden:

a) die Sporocysten sind heteropolar, mit mehr oder weniger deutlich ausgesprochenem Fortsatz an einem Körperende und einem deutlich ausgebildeten Trichter an dem anderen Körperende;

b) die Sporocysten haben gleichgebildete Pole und sind vollständig symmetrisch, in den allermeisten Fällen nur mit geringen Verdickungen des Exosporits an beiden Enden der Sporocyste.

Die Sporocysten vom Typus a. Das am meisten charakteristische Merkmal dieser Sporocysten bildet die Erscheinung, daß ihr Exosporit sich an dem einen Ende zu einem offenen Trichter erweitert, durch welchen der Austritt der Sporozoiten nach außen erfolgt. Während das gegenüberliegende, mit einem einfachen Fortsatze versehene Ende der Sporocyste in seiner Gestalt stark variiert, unterliegt das trichterförmige Ende der Sporocyste bei allen Gre-

garinen dieses Typus fast gar keinen Abänderungen (siehe Fig. 1). Der Endosporit ist bei vielen der diesbezüglichen Formen an seinem dem Trichter des Exosporits entsprechenden Ende ebenfalls trichterförmig ausgezogen; der entgegengesetzte Pol des Endosporits ist stets gleichmäßig abgerundet und weist keinerlei Fortsätze auf. Das entsprechende Ende des Exosporits dagegen besitzt stets eine verschiedene Gestalt: es ist entweder abgerundet und liegt dem Endosporit dicht an (*Cystobia irregularis* Minchin, Fig. 1 a), oder springt in Gestalt einer schräg abgestutzten Mammelle vor (*Cystobia eupyrgi* n. sp., Fig. 1 b), oder endlich es ist zu einem mehr oder

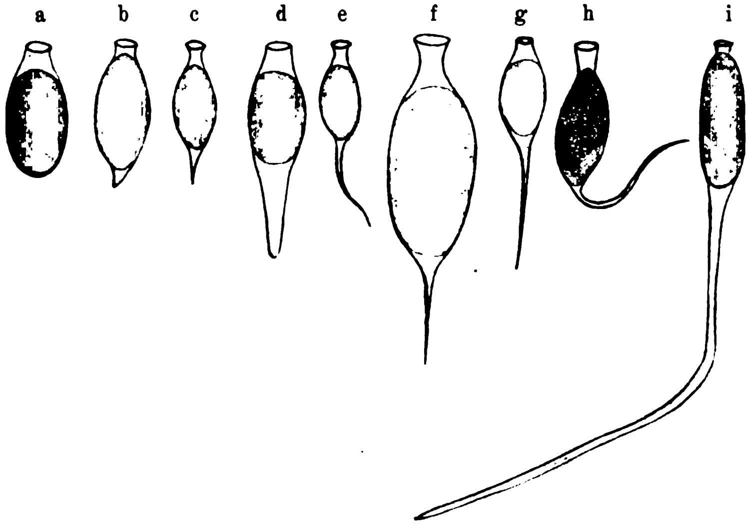


Fig. 1.

weniger langen, geraden oder runden Schwanze ausgezogen (Fig. 1 c—h).

Dieses Ende kann sich auch zu einem langen, durchsichtigen Rohre ausziehen, welches an einem Ende verschlossen ist (*Lithocystis schneideri* Giard, Fig. 1 i), oder endlich eine Zweiteilung erfahren (*Ceratospora mirabilis* Léger, Fig. 2).

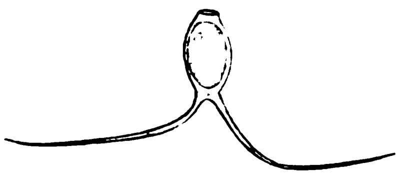
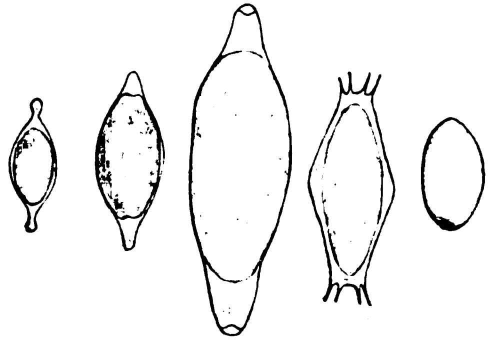


Fig. 2.

Die Sporocysten vom Typus b sind noch viel weniger genau untersucht worden. Als ein allgemeines typisches Beispiel für dieselben können die Sporocysten zahlreicher *Monocystis*-Arten aus verschiedenen Lumbriciden dienen (Fig. 3a u. b). Der Exosporit

kann an beiden Enden statt abgerundeter Verdickungen, wie dies bei *Monocystis* der Fall ist, Büschel von Stacheln bilden (*Syncystis mirabilis* Aimé Schn., Fig. 3 d); letztere, von Aimé Schneider im Jahre 1886 angestellte Beobachtung bedarf übrigens einer Nachprüfung.



a b c d e
Fig. 3.

Es ist von großem Interesse, daß die hier angeführte Teilung der Sporocysten bei den Cölom-Monocystidea in zwei Typen auch durchaus und in ebenso scharf ausgesprochener Weise einer Einteilung der Wirtstiere dieser Gregarinen auf Grund ihrer Lebensweise und Verbreitung entspricht. Die Gregarinen vom Typus a finden sich ausschließlich in Bewohnern der Meere, diejenigen vom Typus b ausschließlich in Bewohnern des Festlandes und des Süßwassers. Bezüglich des ersten Typus ist diese Regel eine so beständige, daß man von einer vorliegenden heteropolaren Sporocyste mit einem Trichter an dem einen Ende ohne irgendwelches Bedenken behaupten kann, daß dieselbe der Cölomgregarine irgend eines Seetieres angehört; andererseits kann von vornherein angenommen werden, daß eine jede Cölom-Monocystidee irgendeines beliebigen Meeresbewohners mit Trichter versehene Sporocysten besitzt.

Bezüglich des Typus b kann ich mich nicht mit der gleichen Bestimmtheit aussprechen, indem ich selbst zu wenige Vertreter dieses Typus zu beobachten die Gelegenheit gehabt habe; die Angaben in der Literatur geben jedoch auch in betreff dieser Sporocysten Hinweise auf eine gleiche Beständigkeit der angegebenen Regel.

Die Gestalt der Sporocysten befindet sich demnach weder für die Gregarinen des ersten, noch für diejenigen des zweiten Typus in irgendwelcher Abhängigkeit von der Stellung des Wirtes der

Gregarine im System des Tierreiches. So sind die für den Typus a charakteristischen Sporocysten bei den Echinodermata (und zwar sowohl bei den Holothurioidea als auch bei den Echinoidea), bei zahlreichen Polychaeta und endlich bei den Gephyrei (*Sipunculus undus*) angetroffen worden, d. h. bei Vertretern verschiedener Klassen und sogar verschiedener Typen von Organismen.

Ebenso ist es mit den Sporocysten der Form b der Fall (bei den Oligochaeta und den Insecta).

Wie ich bereits bemerkt habe, sind Sporocysten ohne Trichter noch bei keiner einzigen Cölomgregarine aus Meeresbewohnern angetroffen worden. Einige scheinbare Ausnahmen, zu deren näheren Betrachtung ich nunmehr übergehen will, sind nur dazu geeignet, die von mir aufgestellte Regel zu bestätigen.

So sagt Léger (9) bezüglich *Urospora sipunculi* Köll., daß deren Sporocyst an dem einen Pole in Gestalt eines langen, geschlängelten Schwanzfadens endigt, an dem anderen Pole dagegen einen Busch von sechs kleinen Zähnchen trägt. Später jedoch hat es sich nach den Angaben von Cuénot (3) und durch meine eigenen mehrmaligen Beobachtungen herausgestellt, daß wir es bei *U. sipunculi* statt eines Büschels von Zähnchen mit einer typischen Trichteröffnung zu tun haben; es unterliegt keinem Zweifel, daß der bei oberflächlicher Betrachtung den Eindruck stachelförmiger Fortsätze der Sporocyste hervorrufende optische Querschnitt durch die Trichterwandung Anlaß zu der erwähnten unrichtigen Beschreibung gegeben hat.

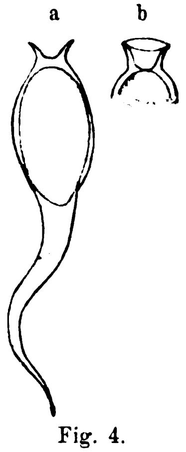


Fig. 4.

Die gleiche Erscheinung hat auch bei der vor einigen Jahren von Brasil (1) untersuchten *Urospora lagidis* zu einem ähnlichen Ergebnisse geführt. Wie aus der Kopie seiner Abbildung (Fig. 4 a) und der von mir daran angebrachten Korrektur (Fig. 4 b) zu ersehen ist, hat Brasil die Wandung des Trichters im optischen Querschnitt dargestellt, wodurch das Bild einer Sporocyste mit zwei von deren Ende aus divergierenden Stacheln gegeben hat; an dem anderen Ende der Sporocyste ist das bei den Sporocysten vom Typus a so häufig vorkommende „filament caudal" durchaus richtig dargestellt. Meine Auffassung wird auch durch die Beschreibung des Austrittes der Sporozoiten aus der Sporocyste bestätigt, welche nach Brasil „s'opère par le pôle opposé au filament caudal" (1, p. 222), d. h. durch den Trichter des Exosporits. Es muß übrigens hervorgehoben werden, daß Brasil selbst

gar nicht auf der Genauigkeit der von ihm gegebenen Beschreibung der Sporocyste von *Urospora lagidis* besteht, denn er sagt: „je n'insiste pas sur la description extérieure de la spore“ (l. c. p. 222).

Noch augenfälliger ist der Irrtum, in welchen PORTER (11) bezüglich der Sporocyste einer Monocystidee aus der Leibeshöhle von *Clymenella torquata* verfallen ist; diese Form wird von LABBÉ (8), in dessen Zusammenstellung überhaupt (wenigstens in bezug auf die Gregariniden) ein zu wenig kritisches Verhalten gegenüber der citierten Literatur zu bemerken ist, in ganz unberechtigter Weise auf die Gattung *Monocystis* bezogen (*M. clymenellae* LABBÉ, p. 40).

Die von PORTER (11, p. 5) gegebene Beschreibung der Sporocyste lautet folgendermaßen: „The outer envelope is a very transparent, unstainable structure of an elongated cylindrical or spindle-shaped form. It apparently has two openings one at either end. Around each opening the wall of the capsule is thickened .... The two ends of the capsule generally differ slightly from each other; usually one end has more of a neck-like prolongation than the other, and it is this end which generally presents the more prominent ring. It is not always possible to make out an opening at the end opposite that which is prolonged into a neck.“

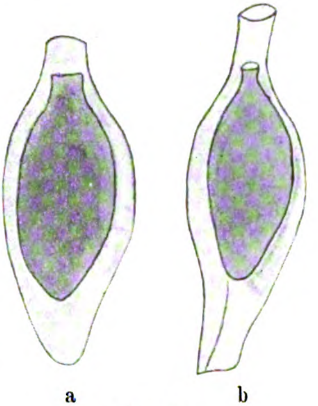
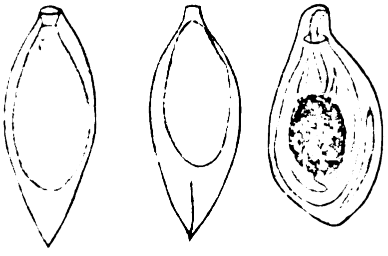


Fig. 5.

Zwei der Zeichnungen von PORTER sind von mir in Fig. 5a u. b wiedergegeben worden. Schon in der von diesem Autor gegebenen Beschreibung ist ein Mangel an Sicherheit bezüglich des Vorhandenseins von zwei Öffnungen bei der Sporocyste zu bemerken, worauf das Wort „apparently“ hinweist; ferner enthält der zweite Teil der Beschreibung einen Hinweis auf die Heteropolarität der Sporocyste und auf das Vorhandensein eines Trichterhalses bei derselben; die letzten Worte endlich überzeugen mich noch mehr davon, daß nur an dem mit einem Halse versehenen Ende eine Öffnung, und zwar die Trichteröffnung, vorhanden ist. Als eine weitere Bestätigung meiner Auffassung können auch die Zeichnungen von PORTER selbst dienen (Fig. 5a u. b), sowie die Tatsache, daß der Endosporit nach den Aussagen dieses Autors stets eine Öffnung besitzt, welche an demjenigen Pole liegt, welcher dem trichterförmigen („neck-like“) Ende des Exosporits zugewendet ist. Besitzt aber der Endosporit nur eine

einzige Öffnung für den Austritt der Sporozoiten, so erweist sich die zweite Öffnung des Exosporiten als vollständig überflüssig. Hieraus folgt, daß auch die von Porter entdeckten Gregarinen keine Ausnahme von der allgemeinen Regel darstellen.

Die Sporocysten der Gregarine aus *Clymenella* weisen eine große Übereinstimmung mit denjenigen der Monocystideen aus anderen Maldaneidae auf, wie z. B. *Pterophora maldaneorum* Ranv. et Labbé (Fig. 6b) aus *Liocephalus liopygus* und *Pterophora ramificata* n. sp., eine von mir im Cölom von *Maldane sarsi* gefundene Form. Das für diese Formen am meisten charakteristische Merkmal besteht in dem dreikantigen Bau des „filament caudal" ihrer Sporocysten; ein derartiger dreikantiger Bau findet sich ohne Zweifel auch bei den von Porter beschriebenen Sporocysten, worauf aus der Zeichnung dieses Autors selbst geschlossen werden kann (Fig. 5b); die längs demjenigen Ende der Sporocyste, welches dem Trichter entgegengesetzt gelegen ist, verlaufende Linie ist eben der Ausdruck einer der Kanten des Schwanzfadens, welche dem Beschauer zugewendet ist; die Bedeutung dieser Linie ist jedoch Porter nicht klar geworden. In den Sporocysten von *Pterophora maldaneorum major* konnte ich ebenfalls in dem Endosporit ganz deutlich einen Trichter nebst Öffnung unterscheiden (vgl. Porter), ja sogar den Austritt von Sporozoiten durch diese Öffnung (Fig. 6c) beobachten; was den Trichter des Exosporits betrifft, so ist derselbe bei dieser Form augenscheinlich an seinem Ende von einer dünnen Membran verschlossen, indem die Sporozoiten nach dem Verlassen des Endosporits nicht nach außen heraustraten, sondern sich nur innerhalb des freien Raumes herumbewegten, welcher bei diesen Sporocysten zwischen Endosporit und Exosporit vorhanden ist. (Eine ausführlichere Beschreibung der Gregarinen von *Pterophora maldaneorum major* sowie der übrigen neuen Arten, deren Namen in diesem Aufsatze genannt werden, beabsichtige ich in dem nächsten Abschnitt meiner „Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen" zu geben.)



a b c

Fig. 6.

Eine annähernd gleiche Form wie die Sporocysten aus den Maldaneidae besitzen auch die Sporocysten (Fig. 6a) der von mir während meines Aufenthaltes auf der Biologischen Murmanstation in der Leibeshöhle von *Trophonia* sp. gefundenen Gregarine.

Viel spärlicher sind, wie ich bereits bemerkt habe, die Angaben über die Sporocysten der Cölomgregarinen aus den Land- und Süßwassertieren, welche nach meiner Annahme alle homopolar und zum größten Teil ohne lange Fortsätze sein müssen. Ich selbst habe nur die Sporocysten mehrerer *Monocystis*-Arten aus *Lumbricus terrestris* (Fig. 3a u. b), sowie Sporocysten sehr großer kugelförmiger Monocystidea aus *Phryganea*-Larven (Fig. 3c) untersuchen können; sowohl erstere wie auch letztere stimmen vollständig mit der vorangeschickten Besprechung überein.

Genau ebensolche Formen besitzen augenscheinlich auch die Sporocysten von *Diplocystis major*, welche in der Leibeshöhle von *Gryllus domesticus* parasitiert; leider haben die von CUÉNOT (4) gegebenen Zeichnungen dieser Sporocysten (Fig. 3e) einen nur skizzenhaften Charakter; doch kann man auf Grund dieser Abbildungen annehmen, daß beide Pole der fraglichen Sporocysten völlig miteinander übereinstimmen und jeglicher Fortsätze entbehren.

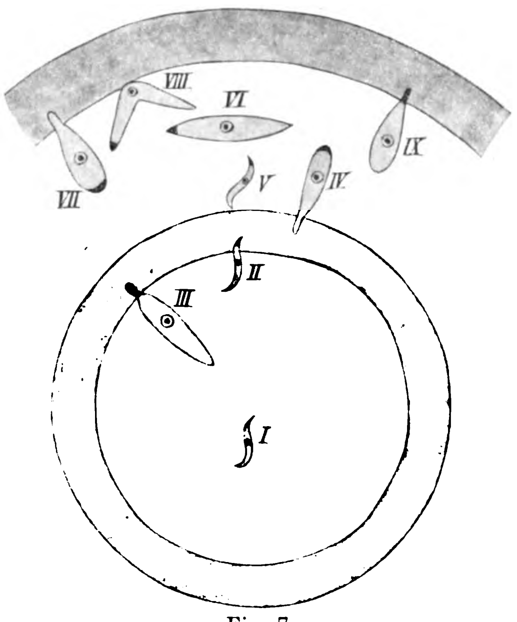


Fig. 7.

Was nun die Sporocysten der übrigen uns im gegebenen Falle interessierenden Gregarinen betrifft, so liegen bezüglich derselben entweder sehr unvollständige oder aber sehr veraltete Angaben vor, deren größter Teil jedoch meine Annahmen durchaus bestätigt.

So besitzt *Syncystis mirabilis* Aimé Schn. aus *Nepa cinerea* homopolare Sporocysten mit kleinen Anhängen an beiden Enden.

Zygocystis cometa F. St. aus der Leibeshöhle von *Lumbricus agricola* Hoffmstr., welche sich ihrem gespannten Habitus nach außerordentlich von den ebendaselbst parasitierenden *Monocystis*-Arten unterscheidet, besitzt jedoch nach den Mitteilungen von Labbé (p. 40) ebensolche Sporocysten wie diese letzteren und zwar „bicorniques avec épaississement pelliculaires aux pôles“. Übrigens bedarf diese sehr alten Quellen (F. Stein 1848 und Lieberkühn 1855) entnommene Angabe einer Nachprüfung: es ist nicht unmöglich, daß Sporocysten von *Monocystis* für solche von *Zygocystis* angesehen worden sind.

Der letzte von Labbé (8) aufgezählte Parasit des betreffenden Typus (d. h. in Land- oder Süßwasserbewohnern lebend), ist *Urospora saenuridis* Köll. aus dem Cölom und den Samentaschen von *Tubifex tubifex* Müll. Eine Zuteilung derselben zu den Sporocysten vom homopolaren Typus wird durch den Umstand erschwert, daß einer der Autoren, von welchen *U. saenuridis* untersucht worden ist, und zwar Ray Lankester (12), für diese Form heteropolare Sporocysten beschrieben und abgebildet hat, bei denen das eine Ende abgerundet, das andere dagegen zu einem ziemlich langen Faden ausgezogen ist. Ich selbst habe diese Form in aus der Umgebung von St. Petersburg stammenden *Tubifex*, trotz der bedeutenden Anzahl der von mir daraufhin untersuchten Tieren, niemals angetroffen. Gegen die von Ray Lankester mitgeteilte Beobachtung spricht jedoch die von Kölliker (7) gegebene Beschreibung der Sporocysten von *U. saenuridis*, welche allerdings etwas älter ist; nach dieser Beschreibung sind die Sporocysten „vor ihrem ausgebildeten Zustande längliche stabförmige oder elliptische Körperchen“ (7, p. 16). Irgendwelche Fortsätze werden von Kölliker nicht erwähnt. Die Frage von der Gestalt der Sporocysten von *U. saenuridis* bleibt demnach unaufgeklärt; was dagegen sämtliche übrigen Cölomgregarinen der Tiere betrifft, welche Süßwasser- oder Landbewohner sind, so entsprechen deren Sporocysten durchaus der von mir aufgestellten Regel.

Die Wichtigkeit der Bedeutung des Baues und der Gestalt der Sporocysten als klassifikatorisches Merkmal tritt noch mehr hervor, wenn wir die hier zutage tretende Beständigkeit mit der absoluten Unbeständigkeit der übrigen morphologischen Merkmale der Gregarinen vergleichen, d. h. mit der Gestalt des Körpers und seiner Anhänge, dem Charakter des Muskelapparates, dem feineren Bau des Kernes (Zahl der Caryosome etc.), der Fortbewegungsweise und dem

Grade von Beweglichkeit überhaupt, den verschiedenen Einschlüssen des Endoplasmas u. dgl. m.

Eine Spaltung der Cölom-Monocystidea mit Sporocysten vom Typus a und b in zwei verschiedene Familien wird nach dem oben Mitgeteilten meiner Ansicht nach demnach keinen künstlichen Charakter tragen. Für die erstere dieser beiden Familien schlage ich wegen des für die Sporocysten ihrer Vertreter charakteristischen Trichters oder Kragens den Namen Choanosporiden vor, für die zweite Familie, mit homopolaren Sporocysten, dagegen den Namen Homopolaridae.

In der Familie der Choanosporidae erweist sich die Gestalt der Sporocysten auch als das beste Kriterium für die Aufstellung von Gattungen, wobei die im Verzeichnis von Labbé (8) gegebene Klassifikation im Zusammenhange mit den in der vorliegenden Arbeit mitgeteilten Beobachtungen einige Abänderungen erfahren muß. Läßt man sich ausschließlich von der Gestalt und dem Bau der Sporocysten leiten, so wird man sich allerdings gezwungen sehen, einander augenscheinlich so nahestehende Formen, wie z. B. *Cystobia irregularis* Minch. und *C. holothuriae* Schn. zu trennen; man wird sich jedoch hierin fügen müssen, nachdem wir das Prinzip als richtig anerkannt haben, wonach die am meisten beständigen und bei der größten Anzahl von Formen angetroffenen Merkmale als generische, die weniger beständigen dagegen als spezifische Merkmale aufzufassen sind; als solche weniger beständige Merkmale haben wir im gegebenen Falle den allgemeinen Habitus, die kugelförmige Körpergestalt und die völlige Bewegungslosigkeit von *C. irregularis* und *C. holothuriae* anzusehen, durch welche diese beiden Formen einander ähnlich sind.

Die Einteilung der Familie der *Choanosporidae* in Gattungen kann demnach in folgender Weise vorgenommen werden:

I. Exosporit im Querschnitt kreisrund; der Trichter und seine Öffnung sind sehr deutlich; der Trichter meist deutlich halsartig eingeschnürt.

a) Das dem Trichter entgegengesetzte Ende des Exosporits ist abgerundet, ohne irgendwelche Fortsätze und liegt dem Endosporit dicht an. . . . . *Cystobia*.

Hierher gehören aus dem Verzeichnis von Labbé: *Cystobia irregularis* Minch., *Gonospora varia* Léger und *G. sparsa* Léger. (In der Gattung *Gonospora* verbleibt demnach nur noch *G. terebellae* Köll. aus dem Darme von *Terebella* und *Audouinia*, eine Form,

welche nach den angeführten Merkmalen offenbar in die kürzlich von Léger aufgestellte Familie der Selenidiidae einzureihen ist.) In die gleiche Gattung *Cystobia* muß auch *Kalpidorhynchus arenicolae* Cunn. gestellt werden; für diese Form wird von Cunningham eine besondere Gattung aufgestellt; bezüglich *Kalpidorhynchus* siehe weiter die Anmerkung am Schlusse dieses Aufsatzes.

b) Das dem Trichter entgegengesetzte Ende des Exosporits ist in Gestalt eines mehr oder weniger langen Fortsatzes ausgezogen. . . . . *Urospora.*

Hierher gehören: *Urospora sipunculi* Köll., *U. synaptae* Cuén., *U. lagidis* St. Joseph, *Cystobia holothuriae* Schn., *C. chiridotae* Dogiel und *Lithocystis schneideri* Giard.; die Anwesenheit von Kristallen im Endoplasma dieser letzteren Form ist kein genügender Grund, um für dieselbe eine besondere Gattung aufzustellen.

c) Das dem Trichter gegenüberliegende Ende des Exosporits ist in Gestalt zweier Fortsätze ausgezogen. . . . . . *Ceratospora.*

Die einzige Art dieser Gattung, *C. mirabilis* Léger, wurde in der Leibeshöhle von *Glycera sp.* gefunden (Fig. 2).

II. Exosporit im Querschnitt dreikantig; sein Trichter oft schwach ausgebildet; das dem Trichter entgegengesetzte Ende des Exosporits zu einem dreikantigen Fortsatze ausgezogen. . . . . *Pterospora.*

Hierher gehören: *Pt. maldaneorum* Racov. et Labbé, *Pt. ramificata* Dogiel und *Pt. clymenellae* Porter (bei Labbé in der Gattung *Monocystis* untergebracht).

Die Feststellung der einzelnen Arten innerhalb der Grenzen dieser vier Gattungen erfolgt mit Leichtigkeit auf Grund der Unterschiede in den übrigen morphologischen Merkmalen.

Für eine mehr oder weniger wohl begründete Einteilung der zweiten Familie der Homopolaridae in Gattungen liegen einstweilen noch zu wenige Daten vor.

Auf die Frage, welchem Umstande ein so ausgesprochener Unterschied in den Sporocysten der Seetiere einerseits und der Süßwasser- und Landtiere andererseits und die völlige Übereinstimmung der Sporocysten innerhalb einer jeden von diesen zwei Gruppen zuzuschreiben ist, läßt sich gegenwärtig noch schwer eine Antwort geben; letztere Erscheinung kann z. B. entweder durch die Übereinstimmung der Lebensbedingungen erklärt werden und demnach ein Produkt der Konvergenz darstellen, oder aber man wird derselben eine gewisse phylogenetische Bedeutung beimessen müssen (Abstammung von einander nahestehenden Formen). Letzterer

Gesichtspunkt verdient eine gewisse Beachtung, indem wir im Falle einer Konvergenz berechtigt wären, eine solche in noch höherem Maße auch bei den erwachsenen Gregarinen zu erwarten, bei welchen die Übereinstimmung in der Lebensweise noch stärker einwirken mußte, als bei Sporocysten, die als in der Schutzcyste eingeschlossen nur indirekt von den äußeren Bedingungen abhängig sind. Aus diesem Grunde ist es wahrscheinlich, daß die Gregarinen mit Sporocysten von gleicher Gestalt von gemeinsamen Vorfahren abstammen, und daß die Gestalt der Sporocysten (infolge ihres Verweilens innerhalb der Cysten) das am meisten konservative Merkmal abgegeben hat, während die äußere Gestalt der Gregarinen selbst, sowie deren andere Merkmale, stark variieren.

Zum Schlusse muß ich hervorheben, daß es von großem Interesse sein würde, die Sporocysten der Darmgregarinen von Seetieren genau zu untersuchen, um zu konstatieren, ob dieselben den Sporocysten der Darmgregarinen von Land- und Süßwasserbewohnern ebenso unähnlich sehen, wie dies bei den Cölomgregarinen der Fall ist; die kugelförmigen, nach Caullery und Mesnil nur vier Sporozoiten enthaltenden Sporocysten von *Selenidium* machen eine derartige Annahme sehr wahrscheinlich.

Eine Bemerkung über *Kalpidorhynchus arenicolae* Cunningh. Epimerit und Apomerit.

Indem Cunningham (Arch. für Protistenk. 1907 Bd. X) eine neue Gregarine aus dem Cölom von *Arenicolae* beschrieb, errichtet er für dieselbe eine besondere Gattung, welche er dadurch charakterisierte, daß das Ende ihres Körpers in Gestalt eines Epimerits differenziert ist, vermittels dessen die Gregarine sich an den Wandungen der Leibeshöhle befestigt, während alle übrigen Cölomformen nicht befestigt erscheinen. Vor allem wird man sich fragen müssen, ob die Bezeichnung Epimerit bei der Beschreibung von *Kalpidorhynchus* und allen übrigen festsitzenden Cölomformen richtig angebracht ist. Solcher Formen sind bisher nur zwei beschrieben worden, und zwar *Cystobia* (*Kalpidorhynchus*) *arenicolae* Cunningh. und *Urospora* (*Cystobia*) *chiridotae* Dogiel; außerdem habe ich im Cölom von *Rhynchobolus* und *Travisia* (*Urospora travisiae* mihi) noch zwei Formen gefunden, aber noch nicht beschrieben. Dabei sind die Gregarinen aus *Rhynchobolus* sowie *Urospora chirodotae* stets an der Darmwand befestigt, während *Urospora travisiae* und *U. arenicolae* vorzugsweise an den Wandungen der Nephridien festsitzen.

In das Innere des Cöloms gelangen die jungen Fasern der Cölomgregarinen durch die Darmwandungen, wie dies von Cuénot (4) für *Diplocystis major* und *D. minor* aus der Grille genau nachgewiesen wurde, und wie ich es selbst an einer Monocystidee aus Phryganenlarven beobachtet habe. Wollen wir nunmehr dasjenige Körperende des Sporozoits der typischen Darmgregarinen (wie z. B. *Selenidium*, *Doliocystis* u. a. m.), mit welchem dieselben sich an die Darmwand anheften, und welches sich später zu dem Epimerit differenziert, als das vordere bezeichnen, so werden wir unter Berücksichtigung der Art und Weise des Eindringens der Cölomgregarinen in die Leibeshöhle des Wirtes feststellen können, daß als Befestigungspunkt nicht das vordere, sondern vielmehr das hintere Körperende dient (wenigstens ist dies für *Urospora chirodotae* und den Parasiten von *Rhynchobolus* der Fall). In der Tat kriecht der Sporozoit solcher Gregarinen, indem er sich durch die Darmwand des Wirtstieres hindurchbohrt, mit seinem Vorderende (dem Epimerit) voran; nachdem er mit diesem Ende das den Darm umkleidende Peritoneum durchdrungen hat, tritt der Sporozoit entweder ganz in die Leibeshöhle heraus (und dies geschieht in den meisten Fällen), oder aber er verläßt die Darmwand nicht ganz, sondern bleibt gewissermaßen mit seinem Hinterende in der äußeren Wand des Darmes stecken, an welchem er nunmehr befestigt bleibt. Wenn dieses Ende demnach auch später eine gewisse Differenzierung erfährt, durch welche er sich von dem übrigen Körper auszeichnet, so kann dasselbe doch keinesfalls als Epimerit bezeichnet werden, da es diesem Gebilde durchaus nicht homolog ist; das auf diese Weise differenzierte hintere Körperende läßt sich am passendsten durch den Ausdruck Apomerit bezeichnen. Der Apomerit ist im Vergleich mit dem Epimerit ein Befestigungsorgan späteren Ursprungs, indem die Cölomgregarinen wohl von den Darmgregarinen abstammen.

Wie verhält es sich nun mit *Cystobia* (*Kalpidorhynchus*) *arenicolae?* Besitzt diese Form einen Epimerit oder einen Apomerit? Die frei in das Cölom heraustretenden Sporozoiten büßen, indem sie zur Gregarine auswachsen, meistens ihre Heteropolarität ein, so daß bei der erwachsenen Gregarine beide Körperenden, das vordere und das hintere, einander gleich werden und die Fortbewegung solcher Formen oft nach beiden Richtungen erfolgen kann. Was daher solche Formen wie *Cystobia* (*Kalpidorhynchus*) *arenicolae* betrifft, d. h. Formen, welche sich sekundär befestigt haben, so wird man nicht a priori sagen können, mit welchem Körperende, dem vorderen oder dem hinteren, die Befestigung bei ihnen erfolgt ist.

In jedem einzelnen Falle ist für die Untersuchung des Entwicklungscyclus erforderlich: begibt sich der soeben in das Cölom gelangte Sporozoit solcher Gregarinen ohne seine Heteropolarität einzubüßen, nach den Nephridien und setzt sich hier fest, so haben wir es sicher mit dem Epimerit zu tun; geht der Anheftung ein homopolares Stadium voran, so wird die Beantwortung unmöglich.

Dafür, daß sich der Charakter der Polarität der Cölomgregarinen im Vergleich mit den Darmgregarinen in der Tat verändern kann, liefert *Urospora travisiae* den Beweis. Ihre jungen Stadien schwimmen frei in dem Cölom herum, während die älteren Stadien sich mit ihrer mittleren Körperpartie an die Nephridienwand befestigen; wir haben es hier demnach noch mit einer dritten Befestigungsweise zu tun. Es muß indessen erwähnt werden, daß die Festheftung bei *Urospora travisiae* eine viel weniger feste ist, als bei allen übrigen erwähnten Formen, und daß der sich befestigende Bezirk des Körpers keine spezielle Differenzierung erfährt.

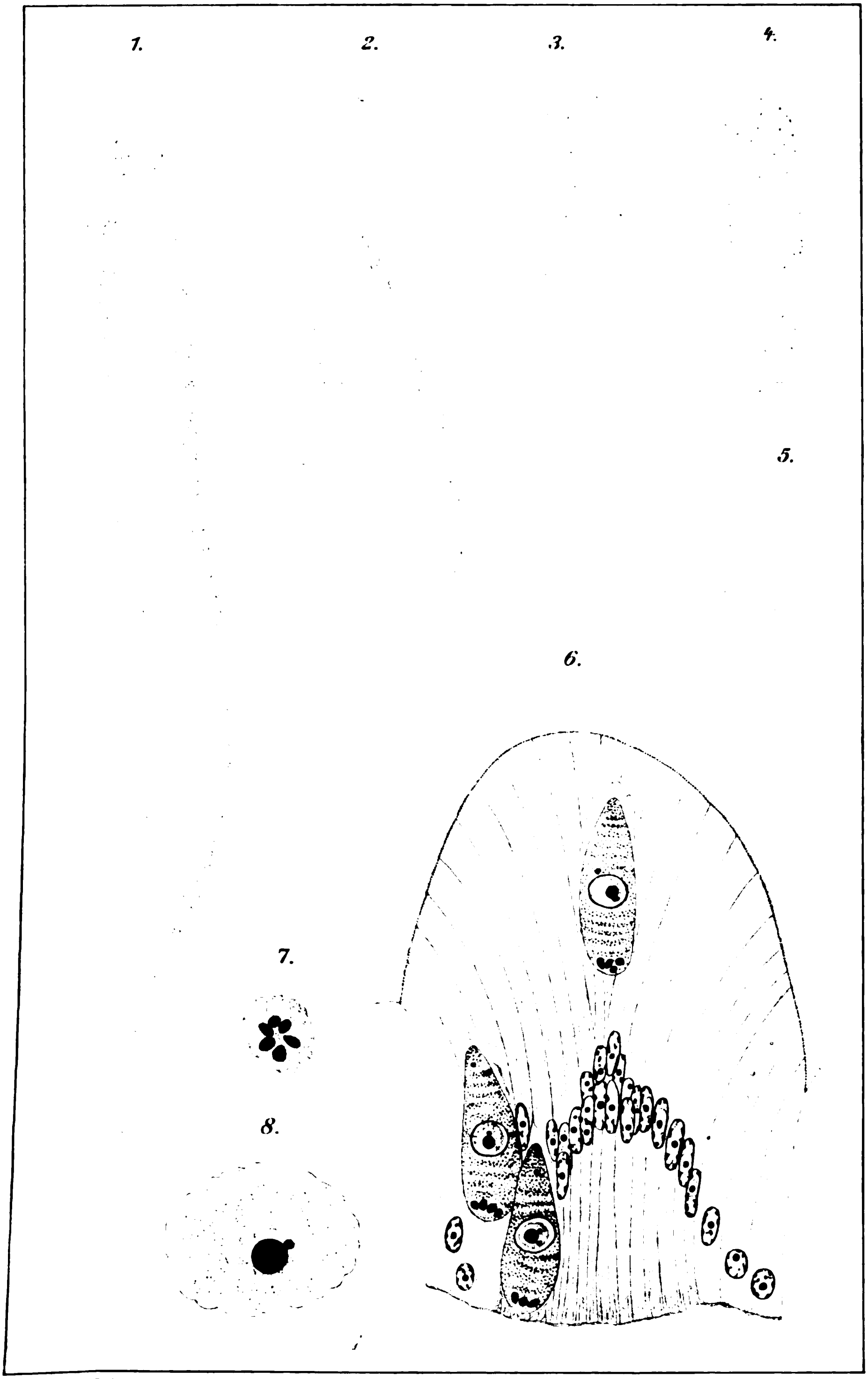
Die mit einem Apomerit versehenen Cölomgregarinen verdienen noch in anderer Beziehung besonderes Interesse: sollten sich bei genauem Nachsuchen nicht Formen unter ihnen finden lassen, bei welchen sich der Apomerit gleich dem Proto- und Deutomerit der Polycystideen durch Einschnürung des Ectoplasmas von dem übrigen Körper abdifferenziert hat? In diesem Falle wäre zweierlei hervorzuheben: 1. es wäre unabänderlich erwiesen (was auch ohnedem mehr Wahrscheinlichkeit verdient), daß die Scheidewand zwischen Proto- und Deutomerit bei den *Polycystidea* sekundären Ursprunges, und der Protomerit daher auch nicht einer gesonderten Zelle homolog ist und 2. dadurch würde der Tatsache des Auffindens eines kleinen „noyeau protoméritique“ bei *Pterocephalus* (Léger 10) eine noch größere Bedeutung beizumessen sein. Diese Tatsache beweist die Möglichkeit der allmählichen Verwandlung eines Teiles der Zelle eines Protozoons in eine ganze, gesonderte Zelle, d. h. es würde hierdurch nochmals der Beweis für die Möglichkeit dafür geliefert werden, daß die Mehrzelligkeit ohne jegliche Abhängigkeit von Prozessen der Vermehrung erzielt werden kann, einer Abhängigkeit, welche von der Theorie der kolonialen Abstammung der mehrzelligen Organismen vorausgesetzt wird.

Was die Ausscheidung von *Cystobia* (*Kalpidorhynchus*) *arenicola* in eine besondere Familie betrifft, so spielt hier die subjektive Auffassung des Autors naturgemäß eine große Rolle. Es dürfte meiner Ansicht nach richtiger sein, diese Form den übrigen Cölomgregarinen der Seetiere nahe zu stellen, indem der Bau der Sporocysten, der

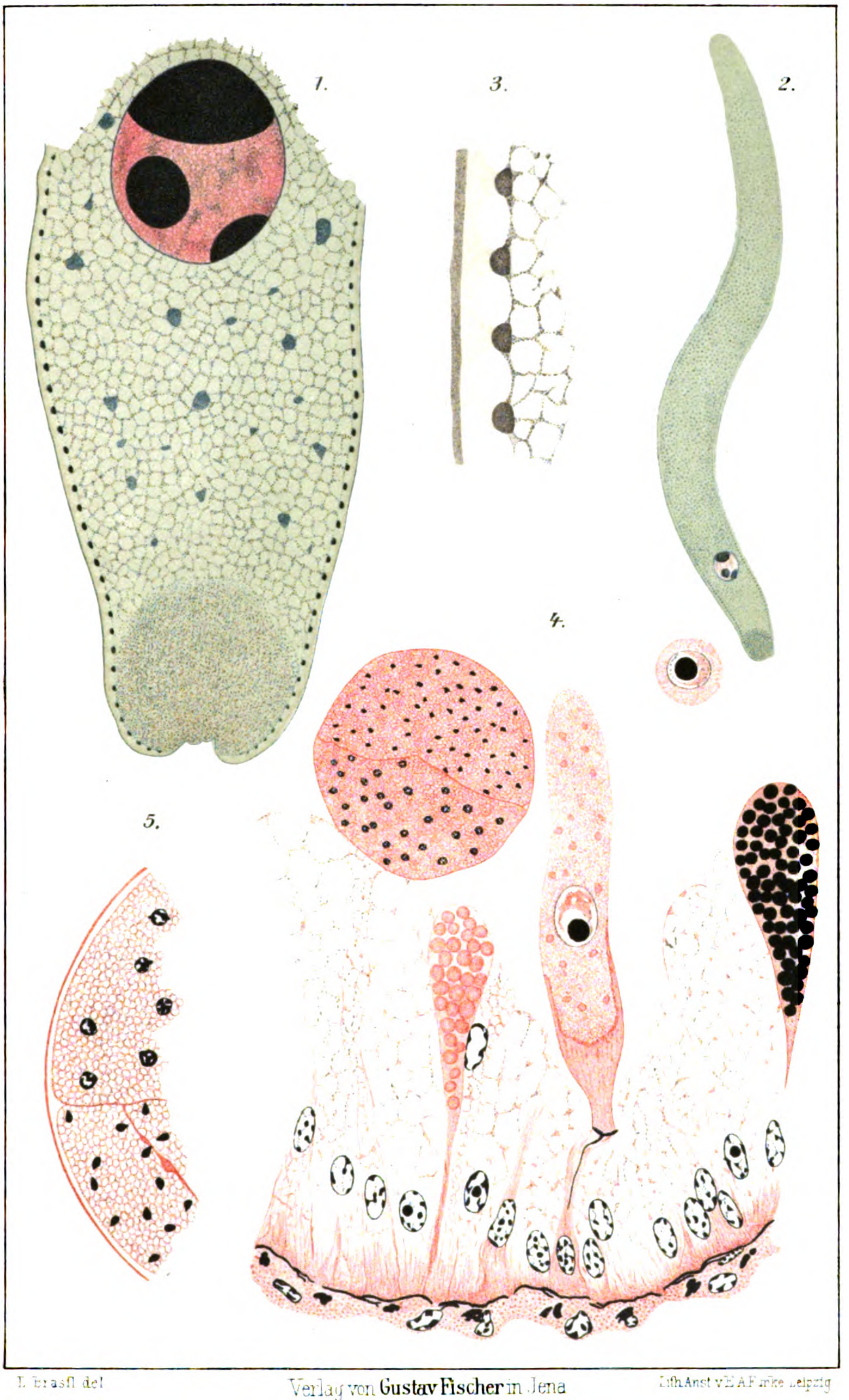
Fundort sowie das Vorhandensein von schwächer befestigten Übergangsformen, wie *Urospora chiridotae* auf eine nahe Gemeinschaft mit diesen letzteren hinweist.

Literaturverzeichnis.

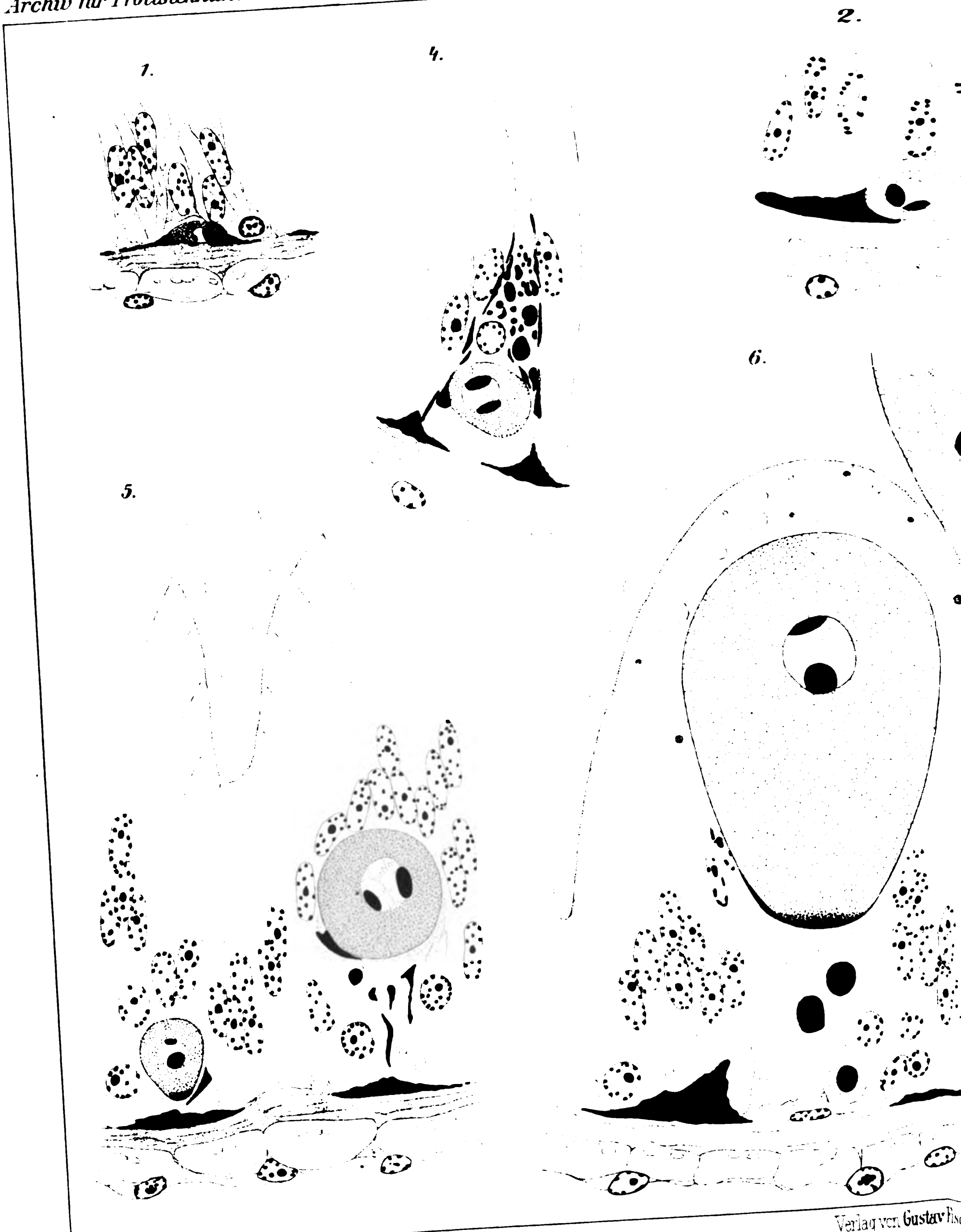
1) Brasil, L.: Appareil digestif des Annelides polychaetes. Arch. Zool. Expér. ser. 4 Tome 2 1904.
2) Cunningham: On Kalpidorhynchus arenicolae. Arch. f. Protistenk. Bd. X 1907.
3) Cuénot, L.: Commensaux et parasites des Echinodermes. 2. note. Revue Biolog. Lille 5e année 1892.
4) —: Recherches sur l'évolution des Grégarines. Arch. de Biol. Vol. XVII 1901.
5) Doflein, F.: Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. 1901.
6) Dogiel, V.: Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. I. Cystobia chiridotae n. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. VII 1906.
7) Kölliker, A.: Beiträge zur Kenntnis niederer Tiere. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. I 1849.
8) Labbé, A.: Das Tierreich. Sporozoa. 1899.
9) Léger, L.: Recherches sur les Grégarines. Tablettes Zoologiques Vol. III 1892.
10) Léger, L. et Duboscq, O.: La reproduction sexuée chez Pterocephalus. Arch. Zool. Expér. ser. 4 Tome 1 1903.
11) Porter, J.: Two new Gregarinida. Journ. Morphol. Boston Vol. 14 1897.
12) Ray Lankester: Remarks on the structure of Gregarines and on the development of Gregarina sipunculi. Quart. Journ. Microsc. Science New Series Vol. XII 1872.
13) Wasielewski: Sporozoenkunde. 1896.



L. Brasil del. Verlag von Gustav Fischer in Jena Lith.Anst.v.E.A.Funke, Leipzig.

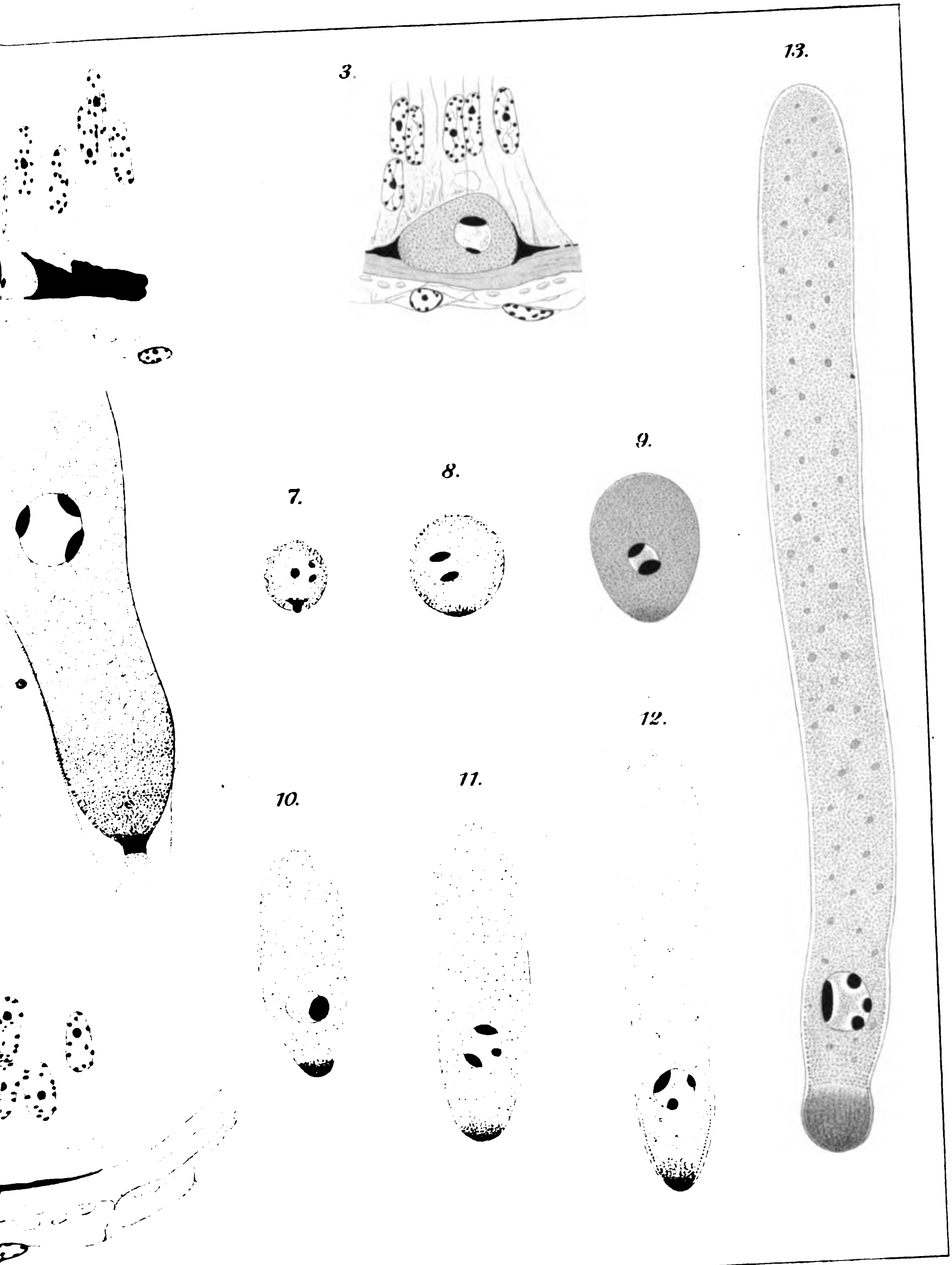


L. Brasil del. Verlag von Gustav Fischer in Jena Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig



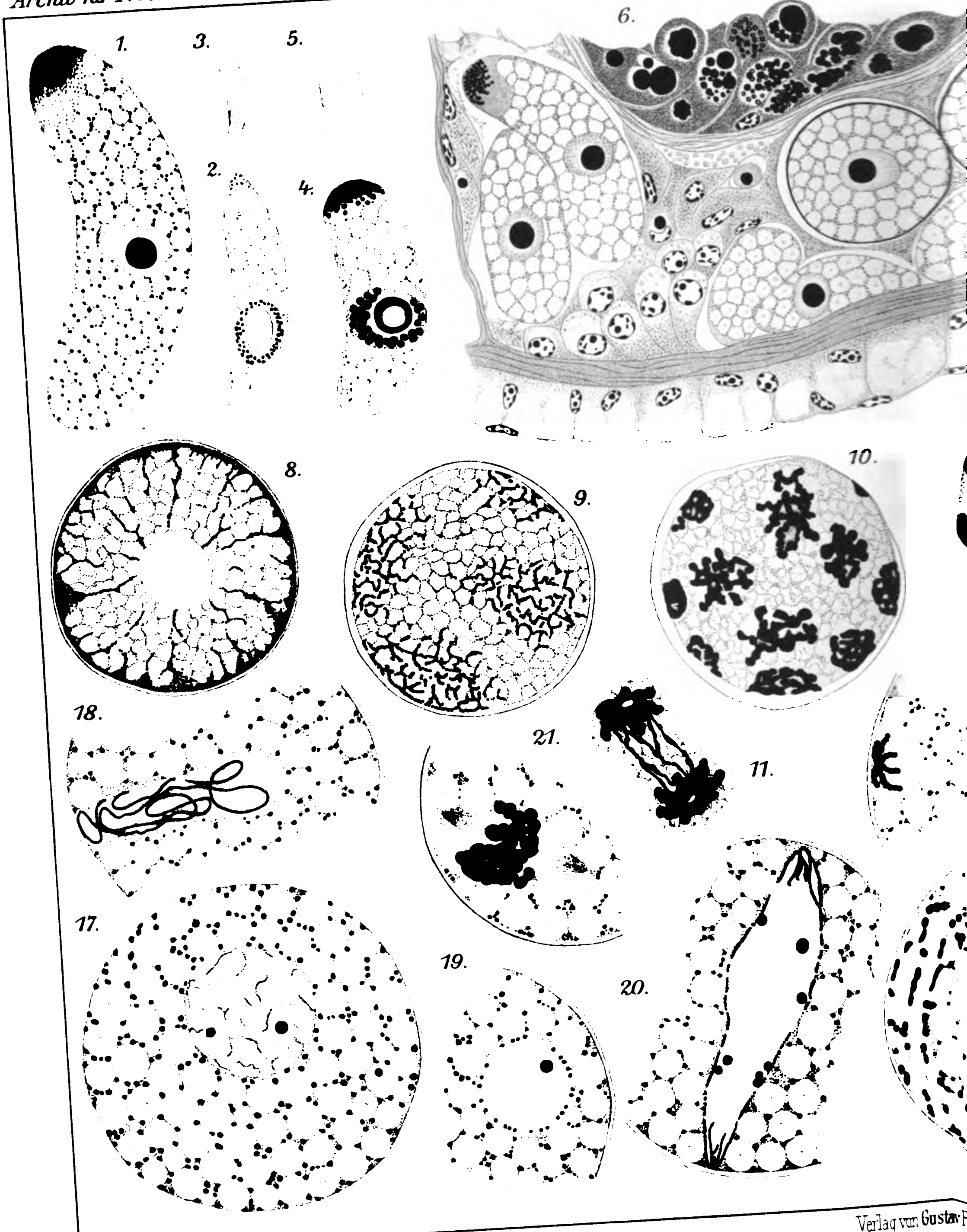
Verlag von Gustav Fis[...]

[...] Brasil del.



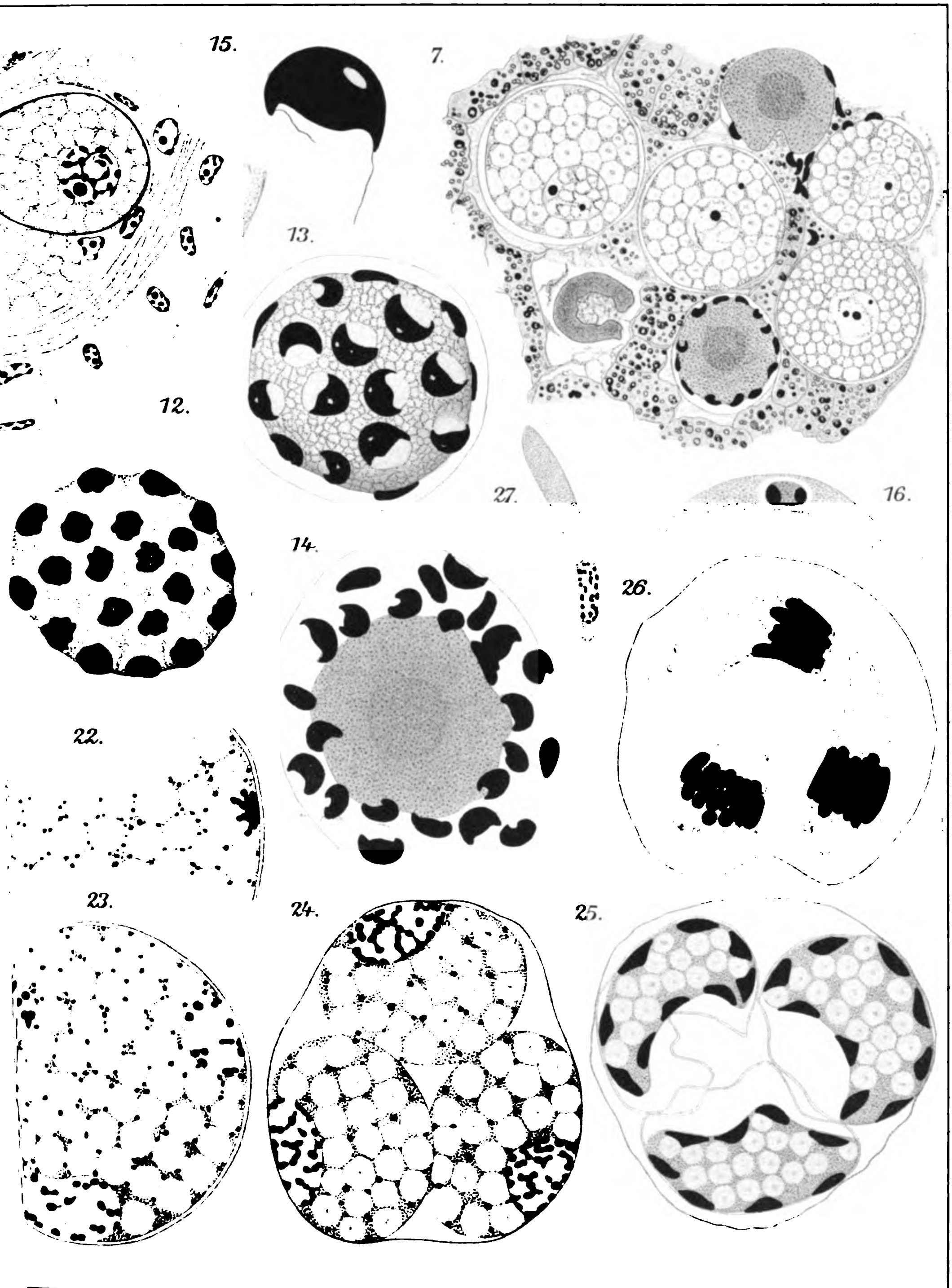
Lith. Anst. v. E. A. Funke Leipzig

Fischer in Jena

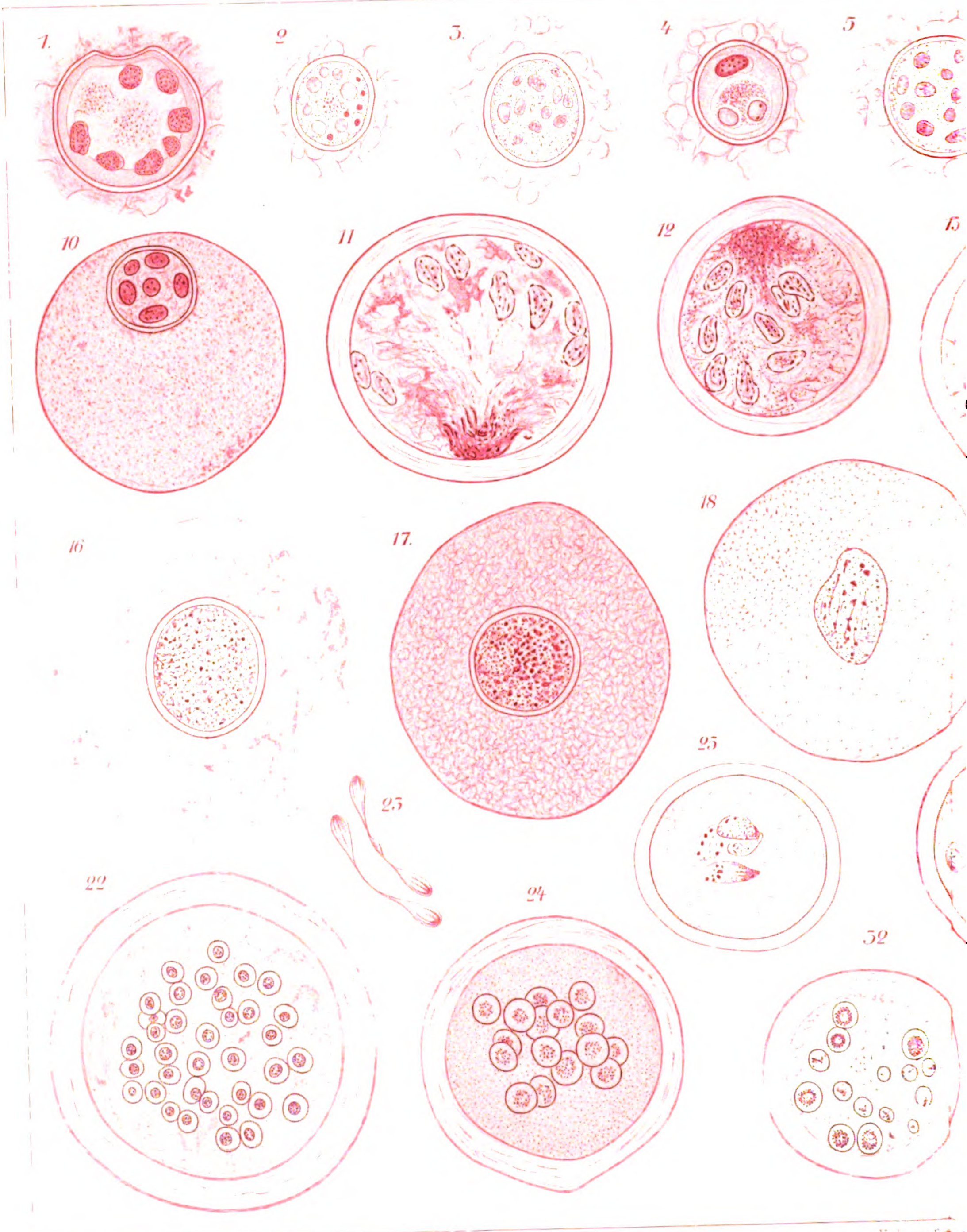


Verlag von Gustav F

L. Brasil del.

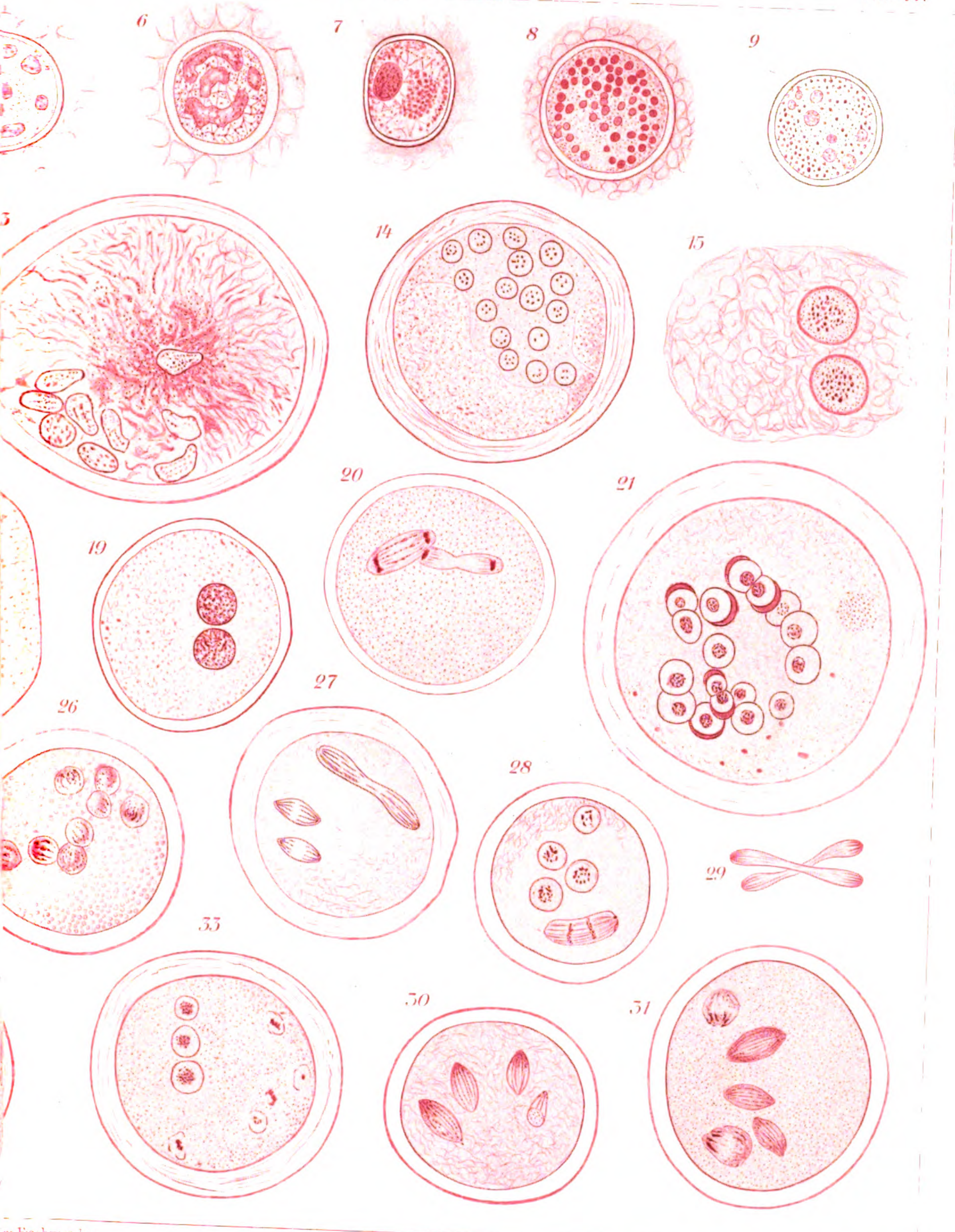


v Fischer in Jena
Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig

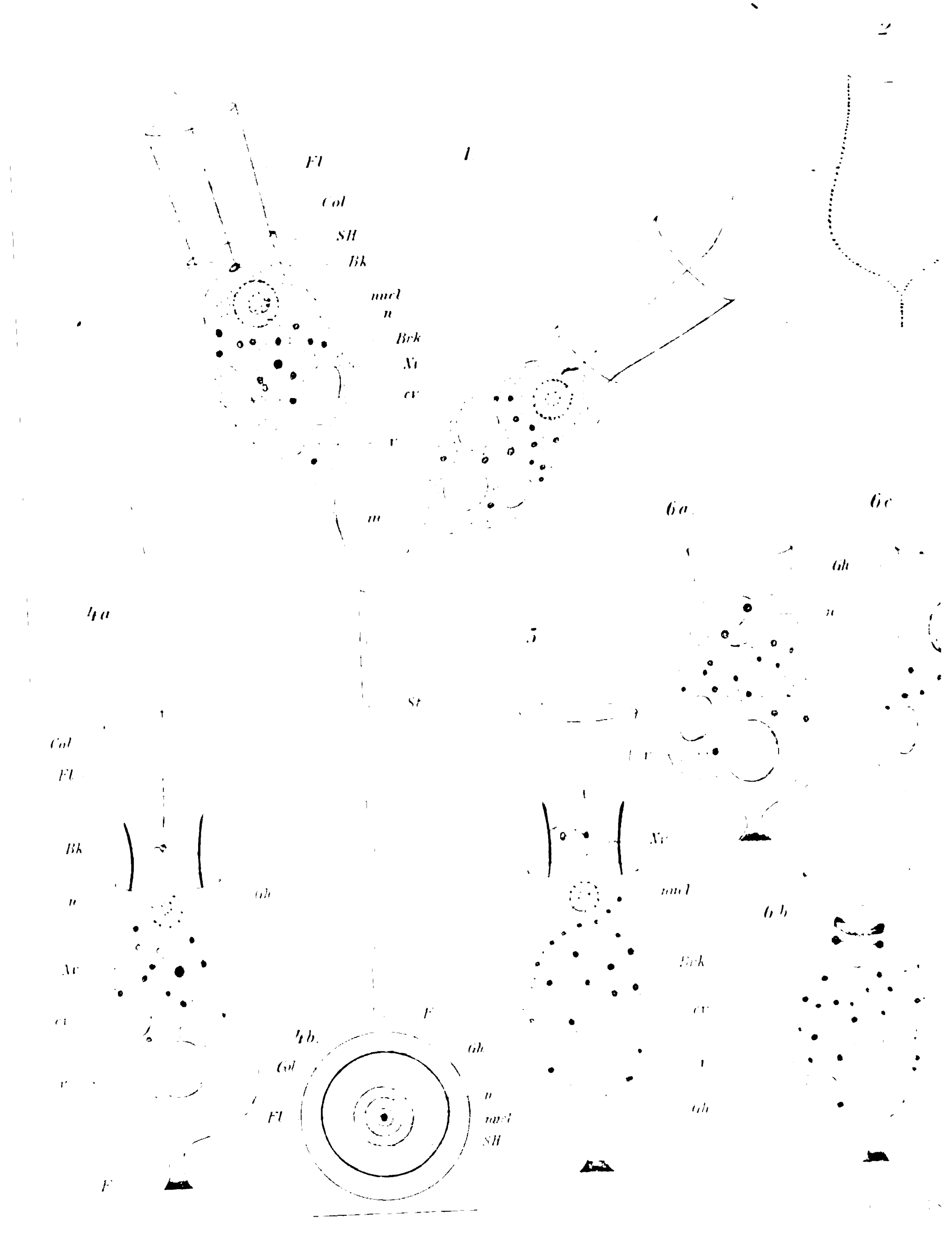


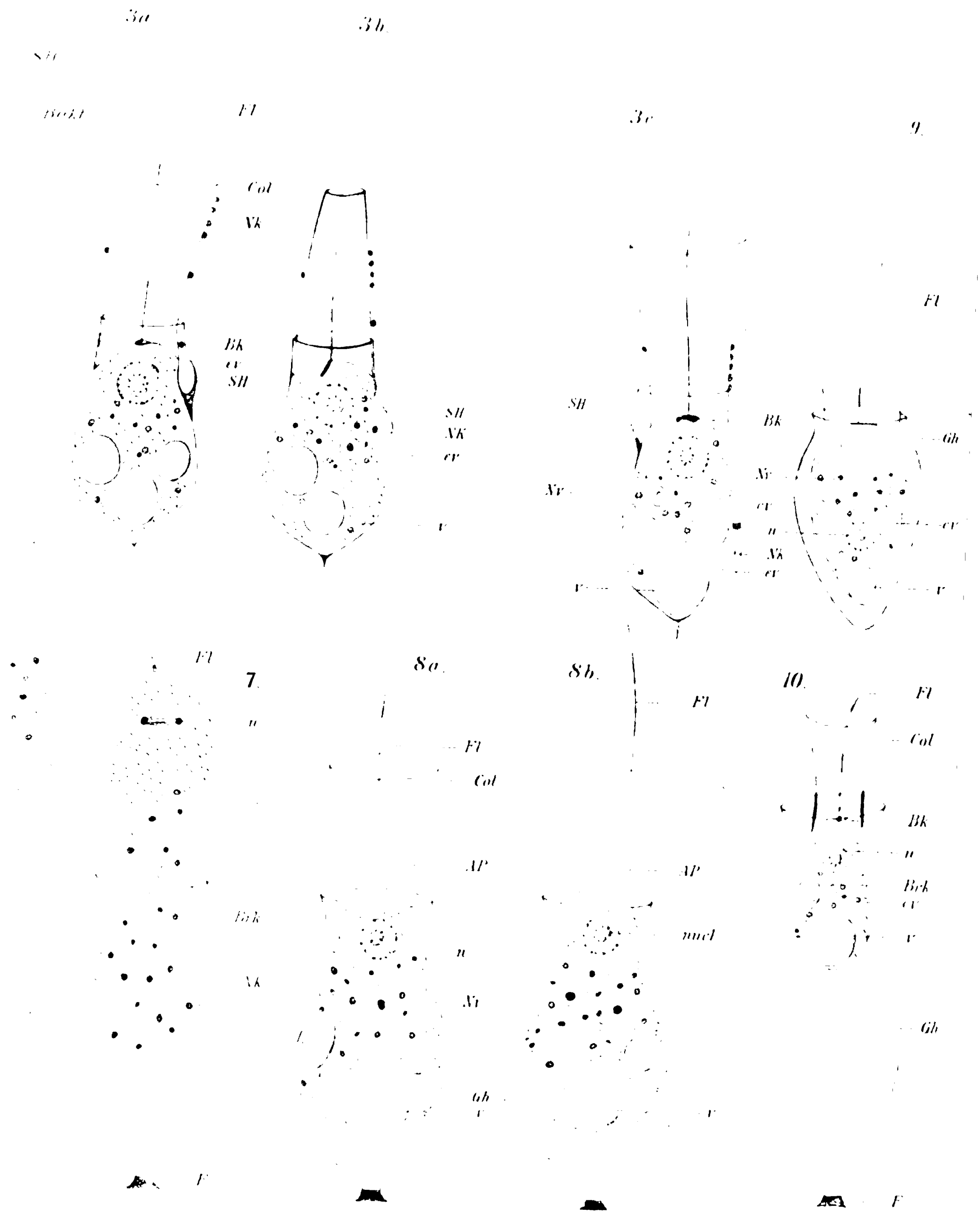
Elmassian gez.

Verlag von



…w Fischer in Jena
Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena


1
2
Fl
Col
SH
Bk
nucl
n
Brk
Nr
cv
v
m
4a
5
St
6a
6c
6b
4b
Gh
F


3a
3b
3c
9.
Fl
Col
Vk
Bk
cv
SH
NK
Nr
n
Gh
7.
8a.
8b.
10.
AP
Brk
nucl
F

(Aus der K. K. Zoologischen Station in Triest.)

Über Bau und Entwicklung von *Acanthometron pellucidum* J. M.

Von

Dr. **Theodor Moroff** und Dr. **Gustav Stiasny**.

(Hierzu Tafel XIII u. XIV und 54 Textfiguren.)

I. Einleitung.

Obwohl bereits 30 Jahre seit dem Erscheinen des klassischen Werkes RICHARD HERTWIG's „Der Organismus der Radiolarien" verflossen sind, haben wir noch immer dieser Abhandlung sowie dem großen Werke HAECKEL's (62) fast ausschließlich unsere Kenntnisse über Struktur und Entwicklung dieser interessanten Organismen zu verdanken. Denn die meisten späteren Arbeiten befassen sich mit rein systematischen Fragen, Neues über Organisation und Entwicklung haben sie uns nur wenig zu bringen vermocht.

Nach dem großen Aufschwung, welchen die Protozoenforschung gerade in den letzten 10—15 Jahren genommen hat, hat sich aber eine Fülle von Gesichtspunkten ergeben, welche eine erneute Untersuchung dieser Protozoen wünschenswert erscheinen lassen. Dies ist um so mehr der Fall, als nach dem damaligen Stande der Protozoenforschung nicht alle Fragen selbst von einem Forscher wie HERTWIG befriedigend beantwortet werden konnten, insbesondere die Art der Entwicklung. Wir haben daher bei dem massenhaften Auftreten von *Acanthometron* während des Monats Juni 1908 im Golfe von Triest die Gelegenheit nicht versäumt, Material davon zu sammeln und die Entwicklung dieses Radiolars zu verfolgen. Außerdem haben wir auch Beobachtungen über die Organisation desselben angestellt.

Obwohl wir uns bewußt sind, daß unsere Beobachtungen sehr lückenhaft sind, haben wir uns doch entschlossen, dieselben der Öffentlichkeit zu übergeben, da wir uns der Hoffnung hingeben, dadurch Interesse für diese interessanten Protozoen auch bei anderen Forschern zu erwecken und Anregung zu weiteren Untersuchungen zu geben. Die noch offenen Fragen — vor allem das Schicksal der Schwärmer — sind meist nur an lebendem Material zu lösen. Wir werden jedoch kaum in der Lage sein, bei einem neuerlichen Massenauftreten von *Acanthometron* unsere Untersuchungen gemeinsam fortzusetzen. Dies ist für uns ein Grund mehr zur Veröffentlichung unserer Resultate in ihrer jetzigen Gestalt.

Untersucht wurden das lebende Objekt und Schnittpräparate. Bei geeigneter Abblendung gelingt es, die Struktur der extracapsulären Sarcode, sowie der Zentralkapsel sehr deutlich zu beobachten. Sehr gut tritt dieselbe bei Zusatz einer Spur von Essigsäure hervor. Konserviert wurde mit Sublimat-Eisessig und FLEMMING'scher Flüssigkeit. Als sehr günstig zeigte sich die Übertragung von in Sublimat-

Eisessig konserviertem Material in FLEMMING'sche Flüssigkeit. Von Färbungsmitteln wurden Boraxcarmin, DELAFIELD-Hämatoxylin und vor allem Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN angewendet.

Wir haben nicht die Absicht, auf die über Bau und Entwicklung der Acanthometriden bestehende Literatur hier in extenso einzugehen, da dieselbe erst kürzlich in mehreren Arbeiten (POPOFSKY (04), MIELCK (08)) übersichtlich zusammengestellt wurde, sondern wollen gleich an die Darstellung unserer Befunde schreiten.

Wir sehen es als angenehme Pflicht an, zuvor auch an dieser Stelle Herrn Professor Dr. C. I. CORI für das unseren Untersuchungen stets dargebrachte Interesse und für die Unterstützung, die er uns bei Beschaffung des Materials zuteil werden ließ, bestens zu danken.

II. Spezieller Teil.

1. Struktur von *Acanthometron pellucidum* J. M.

Wie bekannt, besteht der Organismus eines *Acanthometron* aus dem Skelet und dem Weichkörper. Das Skelet besteht aus 20 nach dem MÜLLER'schen Gesetze angeordneten Stacheln, die von einem gemeinsamen Zentrum nach allen Seiten divergieren. Der Weichkörper (Malakom) setzt sich zusammen aus der extrakapsulären Sarcode und der Zentralkapsel. (Tafel XIII, Fig. 1.)

A. Das extrakapsuläre Plasma,

welches viel umfangreicher ist, als dies von HAECKEL und HERTWIG dargestellt wurde, reicht unter Umständen fast bis an die Enden der Stacheln. Es wird gebildet durch ein Netzwerk feiner plasmatischer Stränge, die von den distalen Stachelenden ausgehend, nach allen Seiten ausstrahlen und sich in ihrem Verlaufe verzweigen. Bildungen, welche hieran erinnern, hat HERTWIG bei *Xiphacantha serrata* und *Acanthochiasma rubescens* beobachtet und als „Stützfasern" bezeichnet. Wir möchten ihnen jedoch contractile Funktion zuschreiben und sie als „Zugfasern" bezeichnen. Um jeden einzelnen Stachel ist ein ganzes System solcher Fasern gruppiert, welches die Stachelscheide bildet, die in ihrer Form an ein Zelt erinnert. An der Oberfläche von *Acanthometron* erheben sich also 20 solcher Zelte. Die anfangs einfachen Fasern spalten und verästeln sich, anastomosieren untereinander, die verschiedenen Systeme greifen ineinander

ein und so kommt ein Netzwerk zustande, das die Zentralkapsel rings umgibt. Ob zwischen den Maschen dieses Netzwerks eine Flüssigkeit ist oder nicht, läßt sich durch Anwendung verschiedener Reagenzien nicht nachweisen.

In diese hyalinen Fäden sind gegen das Stachelende zu die „Myophrisken" oder „Gallertcilien" eingebettet (Fig. 1). Diese anfänglich als geschrumpfte Pseudopodien (J. MÜLLER, HAECKEL) und später als contractile Elemente (HERTWIG) gedeuteten Gebilde haben, wie später ausführlich gezeigt werden wird, ihre Provenienz im Innern der Zentralkapsel. Es sind längliche, stäbchenförmige Gebilde, die stark durch Kernfarbstoffe tingierbar sind und aus zwei durch eine schmale schwach färbbare Zone getrennte Streifen chromatischer Substanz bestehen. Die Myophrisken inserieren nicht, wie bisher stets angegeben, mit ihrem proximalen Ende an der äußeren Ectoplasmaschicht, mit ihrem distalen Ende am Stachel, sondern liegen in den Zugfasern. Man sieht deutlich oberhalb und unterhalb der kranzförmig oder lampenschirmartig angeordneten Myophrisken die hyalinen Fasern weiterziehen, die Myophrisken liegen also in den hyalinen Zugfasern drin.

Die Zahl der Myophrisken ist wechselnd und beträgt circa 15 bis 20 und mehr pro Stachel je nach Alter und Funktionszustand der *Acanthometra*. Wie es scheint, nehmen die Myophrisken mit dem steigenden Alter des Tieres ständig an Zahl zu, wie dies auch von POPOFSKY und MIELCK bereits beobachtet wurde.

Den Beobachtungen HAECKEL's und HERTWIG's über die Myxopodien und Axopodien können wir nur wenig Neues hinzufügen. Die Myxopodien oder weichen Pseudopodien entspringen von den oberflächlich gelegenen Zugfasern unterhalb des Myophriskenbündels. Eine Gesetzmäßigkeit im Auftreten dieser Pseudopodien, welche viel kürzer als die Axopodien sind und keinen Achsenfaden haben, konnten wir nicht konstatieren.

Die Axopodien zeichnen sich hingegen durch die große Regelmäßigkeit ihrer Anordnung aus; wahrscheinlich sind sie in der Zahl von 20 wie die Stacheln vorhanden. Sie entspringen vom Zentrum der Zentralkapsel. Der in der Zentralkapsel befindliche Teil der Axopodien ist weit stärker als der außerhalb der Kapsel befindliche, er enthält in seinem Innern, wie bereits von HERTWIG beobachtet, einen Achsenfaden, der ihm seine starre Konsistenz verleiht. Der äußere Teil der Axopodien hingegen ist viel dünner, er ist auch verschiedener Krümmungen fähig. In seinem Innern konnte der Achsenfaden nicht konstatiert werden.

B. Die Zentralkapsel und ihr Inhalt.

Gleich zu Anfang wollen wir hervorheben, daß im Gegensatz zur bisherigen Auffassung der Organismus der *Acanthometriden* kein einzelliges Tier, sondern eine Kolonie von zahlreichen Tieren darstellt und daß die in verschiedenen Entwicklungsstadien befindlichen Individuen in ihrer Gesamtheit den Inhalt der Zentralkapsel bilden. Die „gelben Pigmentkörper“ (Hertwig) oder „Algenzellen“ (Brandt) sind keine dem Organismus der *Acanthometra* fremden Gebilde, sondern Kerne (Macronuclei), die in den Entwicklungskreis des Radiolars gehören.

Die Zentralkapsel hat je nach dem Entwicklungszustande von *Acanthometron* ein verschiedenes Aussehen. Sie ist im vegetativen Zustande von einer dünnhäutigen Membran umgeben, ganz durchsichtig und polygonal gestaltet. Mit fortschreitender Entwicklung wird die Zentralkapselmembran dick und nimmt eine rundliche Form an.

In den vegetativen Stadien, wo die Schizonten in der Zentralkapsel nur peripher liegen, ist das Plasma ganz durchsichtig und besteht aus isolierten kleinen rundlichen Partien, die aus vielen Bläschen zusammengesetzt sind. Oder aber die Plasmapartien sind bei gleicher Durchsichtigkeit mehr länglich gestaltet und unregelmäßig in der Form (Fig. 1). In beiden Fällen ist das Plasma bei jugendlichen Tieren bloß in der Nähe der Durchtrittsstellen durch die Zentralkapsel angesammelt. Hertwig (79) nimmt an, daß die plasmafreien Stellen in der Zentralkapsel von *Acanthometron* von einer wasserhellen Flüssigkeit erfüllt seien, welche bei Behandlung mit Reagenzien weder gerinnt noch sich färbt. Wir glauben, daß wenn eine derartige Flüssigkeit vorhanden ist, dieselbe nicht zur *Acanthometron* gehört, sondern aus dem umgebenden Medium aufgenommen ist. In späteren Entwicklungsstadien stehen die vorhin erwähnten anfangs isolierten Partien durch plasmatische Brücken in Verbindung, die sich girlandenartig von einer Partie zur anderen erstrecken, und in welche „Kerne“ und „gelbe Zellen“ eingebettet sind. Bei fortschreitender Entwicklung erfolgt die allmähliche Ausfüllung der Zentralkapsel mit Plasma von der Peripherie nach dem Zentrum zu und zwar von jeder einzelnen Plasmapartie aus, so daß Haeckel mit seiner Behauptung recht hat, wenn er sagt, daß der Inhalt der Zentralkapsel in eine Anzahl von konischen oder pyramidalen Stücken (Radialpyramiden) zerfällt, die mit ihrer Basis die Kapselmembran berühren, mit der Spitze aber zentropetal gegen den Mittelpunkt

der Kapsel gerichtet sind. Erst später verschmelzen diese plasmatischen Radialpyramiden zu einem einheitlichen Ganzen. Bei vorgeschrittener Entwicklung ist die Zentralkapsel gleichmäßig erfüllt von aus zahlreichen Bläschen zusammengesetztem Plasma, welche die verschiedenen Entwicklungsstadien der einzelnen Individuen darstellen. Diese Bläschen wurden von JOHANNES MÜLLER und HAECKEL als „farblose Zellen“ bezeichnet.

Die Macronuclei sind es, welche früher als gelbe Pigmentkörper (HERTWIG) oder symbiontische Algenzellen (BRANDT) gedeutet wurden. Es sind rundliche Bläschen, an deren Oberfläche sich eine lebhaft gelbgrün gefärbte, aus einzelnen länglichen, polygonalen, dreieckigen Platten bestehende Schicht und ein zentraler farbloser Hohlraum unterscheiden läßt, in dessen Mitte, wie bereits von HERTWIG beobachtet, häufig ein Kern nachweisbar ist.

2. Entwicklung.

Wir kommen nun zur Besprechung unserer Beobachtungen über die Entwicklung von *Acanthometron pellucidum* J. M. Nach der Art und Weise, wie die Macronuclei gebildet werden, sowie nach dem Aussehen des idiochromatischen Kerns unterscheiden wir zwei Reihen in der Entwicklung von *Acanthometron*, welche möglicherweise auf einen Dimorphismus (Generationswechsel) hindeuten. Wir konnten jedoch nur eine Art von Sporen (Schwärmer) beobachten, in welchen keine Kristalle zu sehen waren. Ob auch Kristallschwärmer zur Ausbildung gelangen, darüber können wir kein Urteil abgeben.

Ganz junge einkernige Acanthometren, wie sie von früheren Forschern dargestellt werden, haben wir nicht beobachten können. Die jüngsten von uns studierten Tiere hatten annähernd die Größe erwachsener Acanthometren. Die Kerne waren in größerer Anzahl vorhanden. Das Protoplasma trat als inselförmige Ansammlungen an den Durchschnittstellen der Stacheln aus der Zentralkapsel auf, welche durch weite Zwischenräume von einander getrennt waren (Fig. 1 und Fig. A). Bei starker Vergrößerung zerfällt das Plasma in eine größere Anzahl von kleineren und größeren Gebilden, welche für gewöhnlich eine rundliche Gestalt aufweisen. Ihre Struktur ist sehr oft grobvaculär, die kleineren Bläschen sind feinwabig bis gekörnelt. Alle diese Gebilde stehen entweder in lockerer Berührung miteinander oder sie weisen eine mehr oder minder wabige Struktur auf. Meistens ist das Chromatin in den kleineren Gebilden zu einem nucleolusähnlichen Körnchen zusammengezogen, welches den Kern

darstellt; letzterer ist durch einen schmalen hellen Hof von dem übrigen Plasma abgegrenzt (Fig. B I u. II). Die früheren Autoren haben die ganzen Kügelchen als Kerne bezeichnet und der darin vorhandene Nucleus wurde als Nucleolus (Kernkörperchen) angesehen.

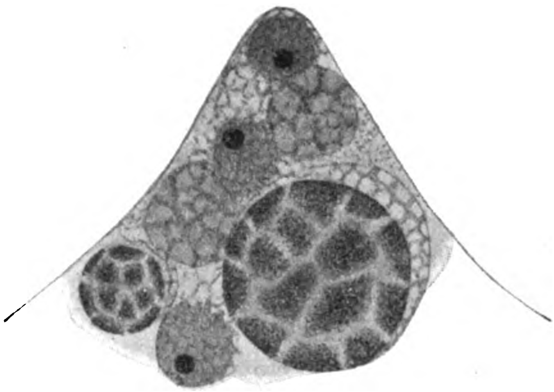


Fig. A. Isolierte Partie des Plasmas im Innern der Centralkapsel an der Durchtrittsstelle eines Stachels. Vergr. 2250 : 1.



I II

Fig. B. I—V. Junger Merozoit mit verschiedenen Stadien des in Bildung begriffenen Macronucleus. VI. Schizont mit ausgebildetem Macronucleus. Vergr. 2250 : 1.

Wir haben in unserer vorläufigen Mitteilung diese kernähnlichen Bläschen als Merozoiten bezeichnet.[1]) Sie sind entstanden durch Zerfall der größeren vielkernigen Plasmamassen.

A. Reihe mit kleinen Kernen.

Bei unserer Darstellung der Entwickluug gehen wir von den Merozoiten aus. Die Merozoiten sind meistens von rundlicher Gestalt und 5—6 μ groß, mitunter weit größer (Fig. B I). Ihr Plasma

[1]) In unserer vorläufigen Mitteilung: „Über den Bau und die Fortpflanzung von Aconthometra“, Zentralbl. f. Physiol. Bd. XXII, Nr. 19 wurden durch ein Versehen die Bezeichnungen „Merozoit“ und „Schizont“ im Text und in der Figurenerklärung vertauscht, worauf wir hiermit aufmerksam machen.

ist in unmittelbarer Nähe des Kerns feinwabig bis gekörnelt. Gegen ihre Peripherie sind in wechselnder Menge Vacuolen verteilt, welche den Merozoiten eine großwabige Structur verleihen. Beim Beginn des Wachstums des Merozoiten fängt sein nucleolusähnlicher Kern an, Chromatin in Form kleiner Körnchen abzugeben. Er verliert seine glatte Kontur; an seiner Oberfläche treten kleine warzenförmige Vorwölbungen auf, welche sich abschnüren. An ihre Stelle treten neue Auswüchse (Fig. B II). Auf diese Weise entsteht eine Menge kleiner Chromatinkörnchen, welche sich gleichmäßig um den Kern gruppieren. Dadurch wird tatsächlich ein Gebilde erzeugt, welches die Struktur eines gewöhnlichen, von den übrigen Protozoen her bekannten Kernes aufweist (Fig. B III), nämlich ein Kern mit fein verteiltem Chromatin, worin noch ein Nucleolus liegt. Wahrscheinlich haben die früheren Forscher (Hertwig) nur solche Kerne beachtet, das Ausgangsstadium infolge seiner Kleinheit hingegen gänzlich übersehen.



III IV V VI

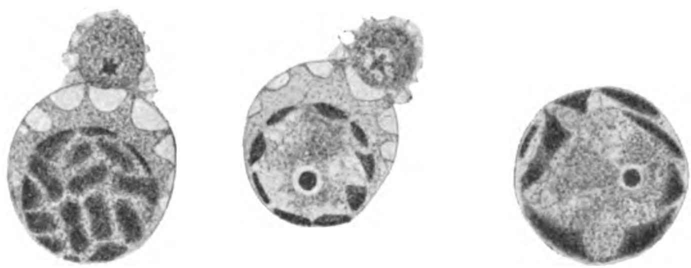
Fig. B.

Bald darauf fängt aber das feinverteilte Chromatin an, sich an einzelnen Stellen zu verdichten, wodurch eine größere Zahl von rundlichen oder abgeplatteten Chromatinansammlungen entsteht (Fig. B IV). Nach und nach konzentriert sich alles Chromatin in diesen Ansammlungen, welche inzwischen eine plättchenförmige Gestalt annehmen (Fig. B V). Diese Chromatinplättchen sind in einer peripheren Schicht um den ursprünglichen Kern angeordnet. Dieser letztere einerseits, die Chromatinplättchen andererseits stellen zwei Gebilde dar, welche während des weiteren Wachstums des Schizonten sich verschieden verhalten und unabhängig voneinander sind. In Anbetracht ihres weiteren Schicksals werden wir das innere Gebilde als Micronucleus, das äußere als Macronucleus bezeichnen.

Wie wir auch in unserer vorläufigen Mitteilung hervorgehoben haben, weist der Macronucleus im lebenden Tiere eine grünlich-gelbe Farbe auf. Daher wurden seit Cienkowsky (71) und Brandt (83) diese Gebilde als Algenzellen angesehen, welche in einer Symbiose mit den *Acanthometriden* leben sollen. Da das Wachstum des Schizonten

ausschließlich als eine Folge der Vergrößerung des Macronucleus anzusehen ist, wollen wir zuerst die Veränderungen, welche der letztere eingeht, verfolgen.

Gleich von seiner Bildung an besteht der Macronucleus aus einzelnen Blättchen, welche verschiedene Gestalt aufweisen können (Fig. B V). Meist sind sie unregelmäßig viereckig, mitunter können sie auch eine dreieckige (Fig. B VI) oder polygonale Form annehmen, auch sanduhrförmige Plättchen sind nicht selten, offenbar deutet dies auf eine Teilung hin (Fig. C I—III). Fast immer senden sie von ihrem Rande längere oder kürzere Auswüchse nach verschiedenen Richtungen aus, wodurch der Rand eine verschwommene Kontur bekommt. Ganz wie Chromatin verhalten sie sich nicht, da sie sich mit den gebräuchlichsten Farbstoffen (Boraxcarmin, Delaf. Hämatoxylin) gar nicht oder schlecht färben. Sehr gut färbbar sind sie hingegen durch Eisenhämatoxylin, insbesondere wenn das Material mit Flemmingscher Flüssigkeit fixiert war. Im lebenden Zustande zeigen sie bei schwacher Vergrößerung eine gelblich-grünliche Färbung. Bei starker Vergrößerung ist ihre Farbe mehr grünlich mit einem Stich ins Gelbliche und erinnert an die Färbung des herbstlichen Laubes.



I II III

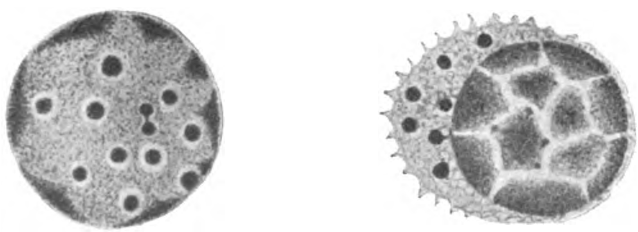
Fig. C. Junge Schizonten. I. bei oberflächlicher Einstellung, II. u. III. bei tiefer Einstellung. Vergr. 2250 : 1.

In den meisten Fällen füllt der Macronucleus den ganzen Merozoiten aus, so daß außerhalb seiner nur eine ganz schmale plasmatische Schicht zu konstatieren ist (Fig. D I). Manchmal befindet er sich nur auf der einen Seite des Schizonten, so daß außerhalb seiner eine mehr oder minder breite Plasmamasse vorhanden ist, welche ihm einseitig angelagert ist (Fig. D II). In seinem Innern weist er eine feinwabige oder feinkörnige Struktur auf. Der Micronucleus ist von einem helleren Hof von dem übrigen Plasma abgegrenzt (Fig. B V—VI, C II—III). Beim Wachstum des Macro-

nucleus nehmen gewöhnlich die ihn zusammensetzenden Plättchen an Größe und Zahl zu und vermehren sich durch Zerschnürung in ihrer Mitte (Fig. C I u. II). In dem jungen Macronucleus sind deren 8—12 an der Zahl. Gegen Ende seines Wachstums können sie sich bis zu mehreren Dutzenden vermehren. Offenbar geben sie an ihre Umgebung ständig von ihrer Substanz ab, da ihr Rand in vielen Fällen sehr verschwommen ist und unmerklich in das angrenzende Plasma übergeht.

Während der ersten Hälfte des Macronucleuswachstums ist der Micronucleus in Einzahl vorhanden und verhält sich passiv. Erst wenn der Macronucleus dem Ende seines Wachstums entgegengeht, fängt er an, sich zu vermehren. Durch rasch auf einander folgende Teilungen entstehen 10, 20, oft über 30 und mehr Kerne, welche sich zuerst im Innern des Macronucleus verteilen. Die Teilung erfolgt auf direkte Weise. Der Kern zieht sich etwas in die Länge, bald darauf entsteht in seiner Mitte eine Einschnürung, und das Stäbchen zerfällt in zwei neue Kerne. Es gelang uns nicht, die erste Teilung d. h. die Teilung des einfachen Micronucleus zu beobachten. Hantelförmige Durchschnürung haben wir bei den Micronuclei erst beobachtet, nachdem sie in Mehrzahl im Macronucleus vorhanden waren (Fig. D 1).

Bald nachdem die Micronuclei ihre Vermehrung abgeschlossen haben, rücken sie mehr gegen die Oberfläche des Macronucleus; die meisten von ihnen kommen in oder zwischen die Chromatinplättchen des letzteren zu liegen (Fig. 2). Inzwischen hat auch der Macro-



I II

Fig. D. I. Vermehrung der Micronuclei. II. Micronuclei außerhalb des Macronucleus. Vergr. 2250 : 1.

nucleus seine definitive Größe (15—20 μ) erreicht. Seine Plättchen fallen einer raschen Auflösung anheim: ihr Rand verblaßt und ihre zentrale Partie ist noch stärker färbbar. Durch weiteres Verblassen werden sie immer kleiner, schließlich sieht man nur mehr kleine,

unregelmäßige, sich ein wenig stärker als die Umgebung färbende Flecken (Fig. 3), welche jedoch bald verschwinden. Dadurch entsteht eine sich gleichmäßig und stärker färbende Masse, in welcher die Micronuclei unregelmäßig verteilt sind. Diese Masse stellt den erwachsenen Schizonten dar, welcher aus dem Macronucleus durch Auflösung desselben hervorgegangen ist.

Nun rücken die Micronuclei des Schizonten gegen die Peripherie und verteilen sich ziemlich gleichmäßig an der Oberfläche. Um jeden Kern gruppiert sich eine Plasmapartie, welche sich zuerst durch eine helle Zone von der Hauptmasse sondert. Dadurch entsteht eine größere Anzahl von Plasmapartien (Merozoiten) — und zwar so viele als Kerne vorhanden waren — welche sich bald über die Oberfläche des Schizonten vorwölben (Fig. 4). Bald darauf lösen sich die Merozoiten von der Hauptmasse los, welche als Restkörper liegen bleibt.

Die auf diese Weise gebildeten Merozoiten wiederholen von neuem die Entwicklung, indem jeder von ihnen ganz auf die vorhin dargestellte Weise einen Macronucleus bildet und zu wachsen beginnt.

Einmal haben wir einen ziemlich erwachsenen Schizonten beobachtet, bei welchem jedoch die in größerer Zahl vorhandenen Micronuclei außerhalb des Macronucleus sich befanden (Fig. D II). Offenbar ist der Micronucleus hier sehr frühzeitig, wahrscheinlich gleich nach der Bildung des Macronucleus aus dem letzteren ausgewandert.

Hier wäre noch die Frage zu erörtern, ob sich die Merozoiten direkt durch Zweiteilung vermehren können. Hertwig, der, wie erwähnt, die Merozoiten für Kerne der *Acanthometra* ansah, nimmt an, daß sich diese Kerne durch Zweiteilung, durch eine Art hantelförmiger Durchschnürung vermehren können. Den Anstoß dazu soll die Teilung des Kernkörperchens (— unser Kern —) geben. Die verschiedenen von Hertwig beschriebenen Stadien haben wir auch beobachtet (Fig. E I u. II). Wir sind jedoch nicht in der Lage, bestimmte Stellung zu dieser Frage zu nehmen. Die Bilder scheinen zwar dafür zu sprechen. Doch können wir nicht sicher entscheiden, ob uns nicht in diesen Fällen Vorbereitungen des Kerns zur Bildung der definitiven Schwärmerkerne vorliegen.

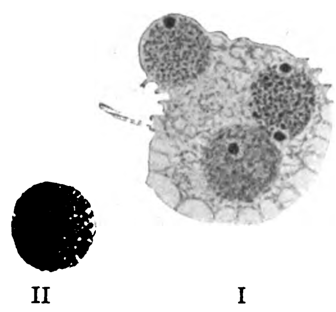


Fig. E. Merozoiten mit sich teilendem Kern (?) Vergr. 2250 : 1.

In dem Maße, wie die Schizogonie vor sich geht, findet durch Zunahme der Zahl der Schizonten und Merozoiten und vor allem der vielen Restkörper eine starke Vermehrung des Protoplasmas statt. Es dehnt sich von seinen Ursprungsstellen nach allen Richtungen in der Zentralkapsel der *Acanthometra* aus und erfüllt allmählich ihren ganzen Raum.

Zuerst findet eine Ausbreitung des Plasma dicht unter der Oberfläche statt; bald darauf oder ziemlich gleichzeitig bilden sich protoplasmatische Auswüchse, welche den Stacheln entlang gegen das Zentrum der *Acanthometra* sich ausbreiten. Hier stoßen sie zusammen und bilden eine gemeinsame plasmatische Ansammlung. Nach und nach wird die ganze Zentralkapsel ausgefüllt, so daß letztere bei Tieren, welche gegen das Ende der vegetativen Entwicklung sich befinden, eine homogene plasmatische Masse darstellt. Sobald die Zentralkapsel ausgefüllt ist, stellen die Merozoiten ihre Entwicklung ein. Bei einzelnen hört die Vermehrung früher, bei anderen später auf. Alle Restkörper und Merozoiten verschmelzen zu einer einheitlichen Masse von gleichmäßiger vacuolärer Struktur.

Bald fängt eine Chromatinauswanderung aus dem Kern der einzelnen Merozoiten in Form von ganz kleinen Körnchen an, wie bei der Bildung neuer Macronuclei (Fig. F I). Zur Bildung solcher kommt

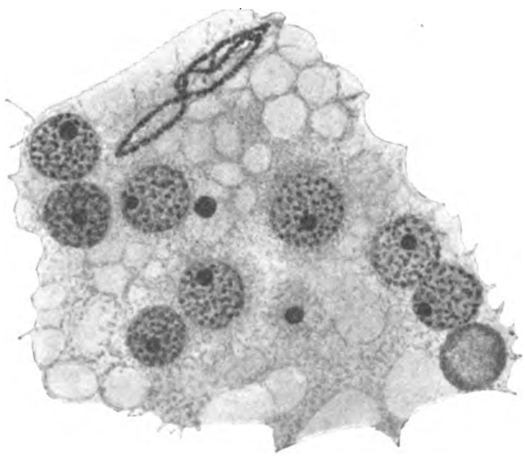


Fig. F. I. Vorbereitung zur Schwärmerteilung. Auflockerung des Kerns und Teilungen. Vergr. 2250 : 1.

es aber in den meisten Fällen nicht. Vielmehr findet die Chromatinauswanderung noch weiter statt, bis der ganze nucleolusähnliche Kern in kleine Körnchen aufgelöst ist. Das ganze Chromatin ist

jetzt zu einem viel voluminöseren Körper vereinigt, welcher bereits jetzt sich auf eine Art mitotischer Teilung vermehren kann (Fig. F I), oder er erfährt eine weitere Größenzunahme und kann auf diese Weise bis 6—10 μ heranwachsen (Fig. F II). Durch eine Zerdehnung nach verschiedenen Richtungen zerfällt ein so stark herangewachsener Kern in 4 bis 6, manchmal auch mehr Tochterkerne. Bei dieser Teilung kommen verschiedene Kernfiguren zum Vorschein (Fig. G I—III). Sehr oft ordnen sich die Chromatinkörnchen in Reihen zu chromosomenähnlichen Gebilden an (Fig. F II).

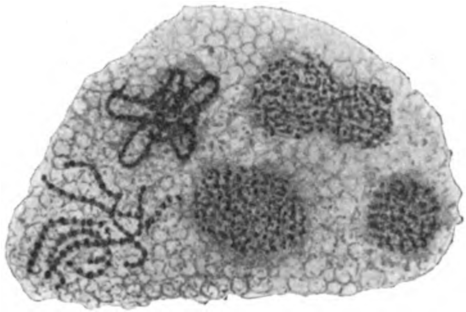


Fig. F. II. Stark herangewachsene Kerne und Beginn der Teilung. Vergr. 2250 : 1.

Bei manchen Kernen unterbleibt die Teilung, das Chromatin verdichtet sich zu einzelnen Plättchen, wodurch wieder Macronuclei gebildet werden, welche den Wachstumsprozeß durchmachen. Im Innern eines solchen Macronucleus ist jedoch kein Micronucleus vorhanden. Solche Macronuclei sind oft am Ende der vegetativen Periode der *Acanthometra* zu sehen (Fig. F I). Ihr Material wird bei der Bildung der Schwärmerkerne und der Schwärmer selbst verbraucht.



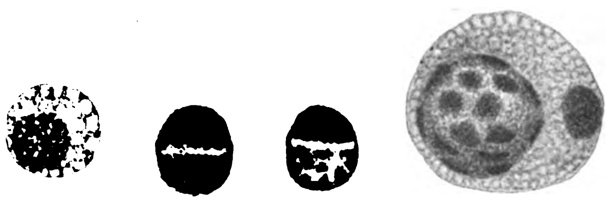
I II III

Fig. G. I—III. Kernteilungen. Vergr. 2250 : 1.

Durch den vorhin erwähnten Zerfall der großen Kerne in mehrere kleinere entstehen die definitiven Schwärmerkerne, welche gleichmäßig die Zentralkapsel erfüllen.

B. Reihe mit großen Kernen.

Eine zweite Entwicklungsreihe von *Acanthometron* zeichnet sich durch die abweichende Art der Bildung des Macronucleus und durch die Struktur des Micronucleus aus. Als Ausgangspunkt unserer Darstellung nehmen wir wieder solche Formen, bei denen das Plasma nur an den Durchtrittsstellen der Stacheln aus der Zentralkapsel angesammelt ist. Es besteht meist aus großen rundlichen Kugeln, welche isoliert oder zu mehreren dicht aneinander gepreßt verteilt sind. Die Struktur dieser Kugeln ist grob vacuolär. Zwischen den großen Vacuolen zieht ein schmaler Streifen fein granulierten Plasma hin. Je nach dem Entwicklungszustande sieht man in diesen Kugeln eine oder mehrere Kerne (Micronuclei), in vielen Kugeln sind noch Macronuclei zu sehen. Bei dieser Reihe sind die Kerne viel größer, sie bestehen aus einer größeren Menge Chromatinkörnchen, welche dicht zusammengezogen sind (Fig. H I). Es ist nicht möglich festzustellen, ob in einem solchen Kern ein Nucleolus vorhanden ist, es macht den Eindruck, als ob ein solcher fehlen würde. Die kleinsten plasmatischen Kugeln sind fast vollkommen von einem solchen Kern ausgefüllt. Gewöhnlich ist in solchen Fällen das Plasma als eine dünne Schicht um den Kern zu sehen. Diese kleinen Gebilde kennzeichnen wir als Merozoiten (Fig. H I).



I II III IV

Fig. H. I. Merozoit mit großem Nucleus. II. Abschnürung des künftigen Macronucleus. III. Differenzierung des Macronucleus. IV. Junger Schizont mit heranwachsendem Macronucleus. Vergr. 2250 : 1.

Sie sind ebenfalls entstanden durch Zerfall von größeren vielkernigen Kugeln. Bei Beginn ihrer Entwicklung wächst der Kern auf die doppelte Größe heran; bald darauf teilt er sich auf amitotischem Wege in zwei annähernd gleiche Kerne (Fig. H II), welche wie die beiden Hemisphären einer Kugel aussehen und durch eine schmale schwach gefärbte Zone voneinander getrennt sind. Der eine von diesen Tochterkernen erfährt eine Auflockerung, er nimmt etwas an Größe zu, wobei seine Chromatinkörnchen sich gleichzeitig an verschiedenen Stellen zu größeren Körperchen verdichten. Dadurch

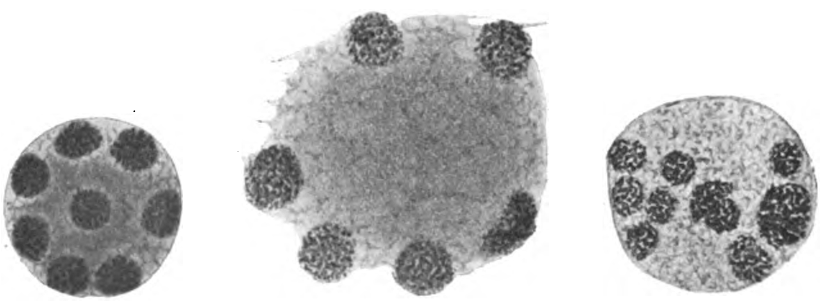
entsteht eine Anzahl von plättchenförmigen chromatischen Gebilden, welche sich um die Peripherie des Kerns anordnen (Fig. H III). Diese chromatischen Plättchen stellen den Macronucleus dar, der andere Kern funktioniert als Micronucleus. Der Macronucleus wächst zu beträchtlicher Größe heran und verursacht zum größten Teil das Wachstum des Merozoiten. Seine Chromatinplättchen weisen dieselbe Gestalt auf wie bei den Macronuclei der anderen Entwicklungsreihe (Fig. H IV). Der Hauptunterschied besteht darin, daß sich der Micronucleus außerhalb des Macronucleus befindet. Ein erwachsener Schizont kann eine Größe von 15—30 μ erreichen, wovon weit über die Hälfte vom Macronucleus eingenommen wird, doch kann derselbe auch weit kleiner bleiben (Fig. J I—III).



I II III

Fig. I. I—III. Schizonten in verschiedenen Entwicklungsstadien. I. Micronuclei in Teilung. II. Stark herangewachsener Macronucleus. III. Schizont unmittelbar vor Auflösung des Macronucleus, Micronuclei in großer Zahl. Vergr. 2250 : 1.

Die Vermehrung des Micronucleus beginnt gewöhnlich bei halberwachsenen Schizonten (Fig. J I). Sie erfolgt ebenfalls auf amitotischem Wege. Die erwachsenen Merozoiten weisen bereits eine



I II III

Fig. J. I—III. Schizonten nach Auflösung des Macronucleus. Vergr. 2250 : 1.

größere Anzahl von Micronuclei auf (Fig. J II u. III), welche, nachdem die Auflösung des Macronucleus erfolgt ist, sich auf die ganze Oberfläche des Schizonten verteilen (Fig. J I—III). Bald darauf lösen sich die Kerne, mit etwas Plasma umgeben, von der Hauptmasse ab, welche als Restkörper liegen bleibt. Oft kommt es aber nicht zur Bildung eines Restkörpers, indem das Plasma zur Bildung der Schizonten verbraucht wird.

In der Ausbildung der Macronuclei kommen sehr oft Abweichungen vor. Öfters wandelt sich der Kern (Micronucleus) eines Schizonten ganz in einen Macronucleus um, ohne daß er zuerst eine Teilung erfahren hätte. Daher enthält ein solcher Merozoit keinen Micronucleus (Fig. K I—IV). Man begegnet auch solchen Fällen, wo sich der Nucleus eines Schizonten zwar zuerst geteilt hat, allein es haben

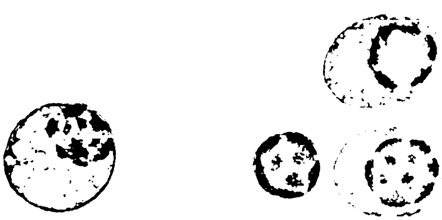


Fig. K. I—IV. Merozoiten, deren Kerne nur zu Macronuclei werden. Vergr. 2250 : 1.

sich beide Tochterkerne zu Macronuclei umgewandelt. Daher enthalten die wachsenden Merozoiten zwei Macronuclei und keinen Micronucleus (Fig. 5). Dadurch entstehen oft sehr große runde oder ovale Plasmamassen, welche durch die vielen großen darin verteilten Vacuolen ein schaumiges Aussehen zeigen. Wiederum in anderen Fällen teilt sich der Schizontenkern in zwei, wovon der eine zum Macronucleus, der andere zum Micronucleus wird. Im halberwachsenen Schizonten, in welchem der Micronucleus sich bereits vermehrt hatte, können jedoch aus einzelnen Micronuclei neue trophische Kerne entstehen, wodurch jetzt in einem solchen Schizonten zwei oder noch mehr Macronuclei vorhanden sind, welche eine verschiedene Größe aufweisen können (Fig. 6).

Ein anderer Modus in der Bildung neuer Macronuclei besteht darin, daß der Micronucleus größere Chromatinstücke zu knospen beginnt, welche sich um ihn herum gruppieren (Fig. L I—V). Mit dem Wachstum des Kerns vergrößern sich auch die abgeschnürten Chromatinkörnchen zu beträchtlichen Gebilden, der Kern im Innern bleibt aber nicht klein wie im Micronucleus, sondern wächst stark

heran (Fig. M). Ununterbrochen schnürt er von seiner Oberfläche rundliche oder längliche Chromatinstücke ab, welche zur Peripherie hinwandern. Die zuerst abgeschnürten lösen sich auf und an ihre Stelle treten neue von dem zentralen Kern abgeschnürte Stücke,

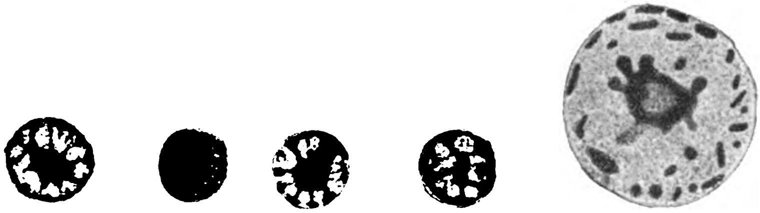


Fig. L. I—IV. Verschiedene Stadien der Bildung des Macronucleus Vergr. 2250 : 1.

welche gleich ihre definitive Größe aufweisen. Sie haben meistens eine längliche spindelförmige oder rundliche Gestalt. Infolge ihrer ununterbrochenen Abschnürung von der zentralen Partie sind in einem solchen Macronucleus die Farbstoffträger nicht allein an seiner Oberfläche verteilt, sondern auch in seinem Innern sind sie in reichlicher Menge zu sehen (Fig. M). Solche Kerne, die offenbar auch Brandt beobachtet hat, sind nicht selten.

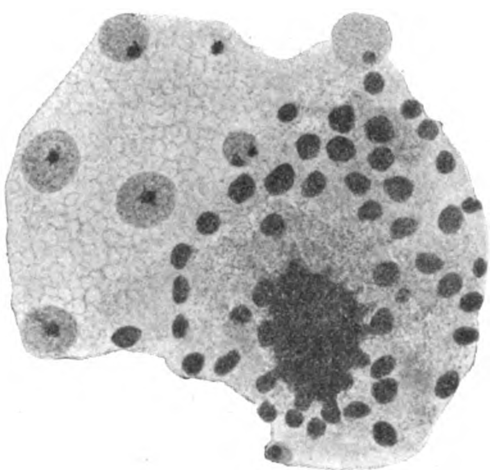
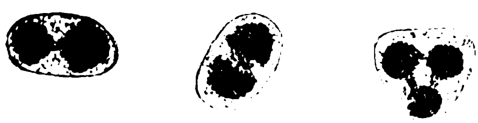


Fig. M. Macronucleus. Vergr. 2250 : 1.

Alle diese Kerne tragen bei zur Bildung von Plasma, welches die Zentralkapsel von *Acanthometron* ausfüllt. Auch hier hört die Schizogonie auf, sobald die Zentralkapsel ausgefüllt ist. Die Mero-

zoitenkerne erfahren durch mehrere rasch aufeinanderfolgende amitotische Teilungen eine beträchtliche Vermehrung (Fig. N I—IV), so daß auf diese Weise Gruppen von mehreren kleinen Kernen entstehen (Fig. N I—IV). Es macht den Eindruck, als ob diese Kerne auf einmal in drei oder vier Stücke zerfallen könnten. Die auf diese Weise entstandenen kleinen Kerne erfahren

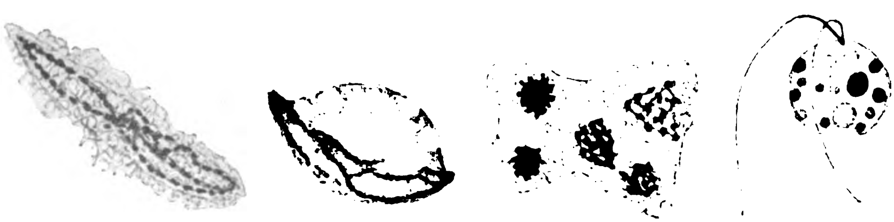




I II III IV

Fig. N. I—IV. Kernteilungen vor der Schwärmerbildung. Vergr. 2250 : 1.

noch eine, höchstens zwei Teilungen, welche auf halbmitotischem Wege verlaufen. Der Kern dehnt sich sehr in die Länge, seine Chromatinkörnchen ordnen sich in zwei oder mehreren Reihen an, welche in den beiden Polkanten zusammenlaufen (Fig. O I u. II). Gewöhnlich brechen die Chromatinfäden in der Mitte durch und ziehen sich zu den beiden Polen zusammen. Dadurch entstehen die definitiven Schwärmerkerne (Fig. O III).



II III IV

Fig. O. I u. II. Letzte Kernteilungen vor der Ausbildung der Schwärmer. III. Fertige Schwärmerkerne. IV. Schwärmer. Vergr. 2250 : 1.

In allen Fällen, sobald sich die definitiven Kerne der Schwärmer in der Zentralkapsel gebildet haben, zerfällt der Inhalt der letzteren in so viele Portionen als Kerne vorhanden sind, ohne einen Restkörper zu hinterlassen.

C. Schwärmerbildung.

Mit dem Beginn der letzten Kernteilung fallen meistens die Stacheln auseinander, die extrakapsuläre Sarcode schrumpft zusammen, so daß jetzt nur die Zentralkapsel erhalten bleibt, die milchig-weiß aussieht. In diesem Zustande fällt sie zu Boden. Wenn bereits die letzten Kernteilungen eingeleitet sind, findet die Ausbildung der Schwärmer statt. Man kann unter dem Mikroskop beobachten, wie die aus der Zentralkapsel ausfließende, milchige Masse in größere und kleinere Stücke zerfällt. Nach ca. 30 Sekunden bis einer Minute sieht man, wie an verschiedenen Stellen dieser Plasmaklumpen je zwei Geißeln entspringen, wodurch das Gebilde, ähnlich wie ein ciliates Infusor, lebhafte Bewegungen auszuführen beginnt. Diese Erscheinung wurde auch von Brandt (05) beobachtet und hat ihn offenbar zur Annahme verleitet, daß die Schwärmer von *Acanthometron* eine größere Anzahl von Geißeln besitzen, welche an verschiedenen Stellen der Oberfläche der Geißeln entspringen. Im Laufe der weiteren Beobachtung sieht man jedoch, daß diese vielgeißeligen Gebilde in mehrere Stücke (soviel als Geißelpaare vorhanden) zerfallen, so daß jeder Schwärmer nur zwei Geißeln besitzt, von denen die eine etwas stärker und länger als die andere ist (Fig. O IV). Die beiden Geißeln entspringen von einem Punkte, der etwas vertieft ist. Die Schwärmer selbst sind von rundlicher oder ovaler Gestalt und ca. 10—15 μ groß. Es waren keine Kristalle darin zu sehen, in den meisten Fällen waren mehrere stark glänzende Kügelchen in ihrem Innern zu bemerken, die sich mit Neutralrot stark färbten und als fettähnliche Reservesubstanz gedeutet werden könnten. Das weitere Schicksal der Schwärmer konnte nicht verfolgt werden.

D. Übersicht über die bisherigen Angaben.

Hertwig (79) und später Porta (01), welche ausführlichere Angaben über die Entwicklung von *Acanthometron* gemacht haben, nehmen an, daß aus den Schwärmern Jugendstadien von *Acanthometron* entstehen, die sich durch einen sehr großen, meist gelappten Kern auszeichnen. Durch Zerfall dieses großen Kerns in eine größere Anzahl kleinerer Kerne entstehen die vielkernigen Acanthometren. Wie Fol und Borgert (98) nachgewiesen haben, sind diese von Hertwig beschriebenen großen Kerne als Parasiten zu deuten.

Von den späteren Forschern nimmt Porta ebenfalls wie Hertwig an, daß es Jugendformen mit einem großen Kern gibt. „Dieser teilt

sich in zahlreiche an Form und Größe differierende Kerne. Dieselben bilden von Plasma umgeben unregelmäßige Körper, in deren Innern sich der Kern in zahlreiche andere Kerne teilt. Diese Körper, die untereinander verschieden sind an Form und Größe, teilen sich durch Spaltung in kleinere Körper mit weniger Kernen. Diese Körper teilen sich nochmals, so daß sich allmählich die Zahl der inneren Kerne bis auf einen reduziert. Diese kleinen Körper, gebildet aus Plasma und einem Kern darin, sind die Sporen, sobald sie reif sind, treten sie aus." (Porta.)

Porta hat den Zerfall der großen vielkernigen plasmatischen Partien in viele kleinere einkernige Bläschen offenbar richtig gesehen, die Entstehung dieser plasmatischen Partien hat er, wie aus der vorstehenden Darstellung entnommen werden kann, unrichtig gedeutet. Hertwig hat ferner, wie seine Vorgänger Joh. Müller und Haeckel, die Macronuclei („gelbe Pigmentkörper", „Algenzellen") als integrierende Bestandteile des Radiolars selbst angesehen und beobachtet, daß die gelben Zellen meistens einen Kern enthielten. Er hat jedoch nicht selten auch solche Zellen beobachtet, wo kein Kern vorhanden war. Diese Erscheinung brachte er in Zusammenhang mit der Bildungsart dieser Körper, indem er meinte, „daß sich die zuerst im Plasma zerstreuten gelben Körperchen das eine Mal im Umkreise eines Kerns zur Bildung einer echten gelben Zelle, das andere Mal sich ohne einen solchen Mittelpunkt angehäuft haben". Wir wollen nicht unterlassen, auf die Ähnlichkeit der Macronuclei mit den symbiontischen Algen hinzuweisen, wie dieselben kürzlich (08) von Keeble bei *Convoluta paradoxa* geschildert wurde.

Die von Popofsky (04) behauptete Vermehrung der *Acanthometra* durch Teilung haben wir ebensowenig beobachten können als die von Porta angegebene Vermehrung durch Knospung. Wir halten diese Vermehrungsweisen für kaum wahrscheinlich.

Was die Jugendformen von *Acanthometra* betrifft, so glauben wir, daß die — befruchteten oder unbefruchteten — Schwärmer, nachdem sie den Macronucleus gebildet haben, eine Zeitlang als braunalgenähnliche Gebilde im Wasser frei herumschwimmen. Nachdem das Skelet und die extrakapsuläre Sarcode angelegt ist, findet vermutlich auf eine der vorstehend geschilderten Weise die Vermehrung der Micronuclei statt. Bald darauf wird der Macronucleus aufgelöst, die Micronuclei rücken auseinander und bilden sich zu neuen Individuen um. Erst in diesem Zustande gelangten offenbar die *Acanthometra* meist zur Beobachtung.

3. Myophrisken.

Wir kommen nunmehr zur Schilderung der Entstehung der Myophrisken oder „Gallertcilien“, wie sie von manchen früheren Forschern genannt wurden. Die Bildung derselben erfolgt stets im Innern der Zentralkapsel und zwar auf zweierlei Weise: 1. Es wandeln sich ganze Kerne von Merozoiten zu Myophrisken um. — Ein Kern, der sich in einen Myophrisk umwandelt, erfährt zunächst eine Anreicherung mit Chromatin, bald darauf streckt er sich in die Länge und es hat den Anschein, als ob er sich teilen würde. Sein Chromatin kann mitunter eine Umordnung zu undeutlichen Chromosomen erfahren. Der Unterschied besteht meist nur darin, daß er weit chromatinreicher ist (Fig. P I—III) als die übrigen Kerne. In diesem Stadium kann er oft eine halbmond- oder S-förmige Gestalt annehmen; endlich streckt er sich stabförmig. Manchmal dehnt sich der vergrößerte Kern zunächst nur auf der einen Seite aus und bekommt dadurch kolbenförmige Gestalt (Fig. P IV), welche sich jedoch



Fig. P. I—IV. Umwandlung der Kerne zu Myophrisken. Vergr. 2250 : 1.

bei fortschreitender Entwicklung verwischt. Schon früh sieht man die für die ausgebildeten Elemente so charakteristische chromatinarme Mittelzone der ganzen Länge nach auftreten, welche unserer Meinung nach als Folge der partiellen Umordnung des Chromatins zu undeutlichen Chromosen aufzufassen ist. Manchmal sind die Myophrisken in einer großen Vacuole eingebettet (Fig. Q). Das Chromatin ist in der Regel ziemlich gleichmäßig über den Chromatinstreifen verteilt. Manchmal (Fig. R) scheinen die Myophrisken auch durch Ansammlung von im Plasma verstreuten Chromatinkörperchen zu entstehen, daher sieht man sie zuweilen in einzelne Zonen ge-



Fig. Q. Junger Myophrisk von Vacuole umschlossen. Vergr. 2250 : 1.

gliedert, die durch chromatinfreie Stellen voneinander getrennt sind. Sehr interessant ist, daß hier also aus ganzen Merozoitenkernen die Myophrisken entstehen können, daß also ein jeder Myophrisk einem Merozoitenkern homolog ist und morphologisch womöglich einen sich teilenden Kern darstellt. — Die andere Art der Entstehung der Chromatinstreifen beruht darin, daß mehrere der peripheren Platten

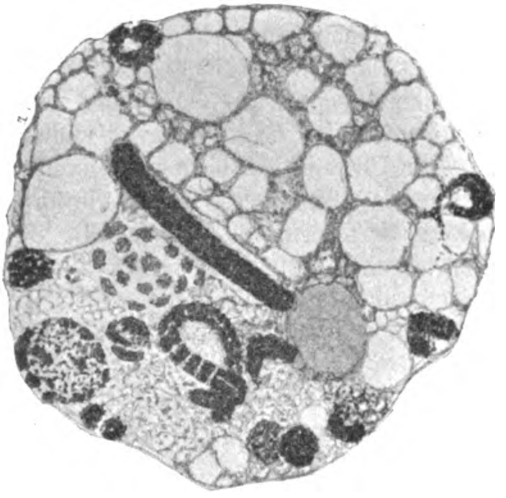


Fig. R. Plasmapartie mit sich ausbildenden Myophrisken in verschiedenen Stadien. Vergr. 1600 : 1.

der Macronuclei zu einem Streifen verschmelzen. Man sieht (Fig. 7) dann an der Peripherie eines Macronucleus einen Chromatinstreifen, der durch seine seitlichen Fortsätze noch deutlich verrät, daß er erst vor kurzem durch Verschmelzung mehrerer Randplatten, welche auch diese Fortsätze haben, entstanden ist. Sobald der Chromatinstreifen seine volle Ausbildung erlangt hat, wandert er ins Plasma aus (Fig. 8). Bald darauf tritt er seine Wanderung vom Orte seiner Entstehung nach dem Verbrauchsorte an (Fig. 1). Längs der Stacheln wandert er aus der Zentralkapsel aus und tritt ins Ectoplasma über, wo er sich in eine der vielen dasselbe zusammensetzenden Zugfasern einfügt. Innerhalb der Zugfasern wandert er weiter, bis er zu dem Myophriskenbündel in der Nähe des Stachelendes gelangt. Hier bleibt er liegen und ordnet sich dem bereits dort vorhandenen Chromatinstreifen ein. Die Wanderung derselben erfolgt nicht vereinzelt, sondern man kann auch an mehreren Stellen die Chromatinstreifen auf der Wanderschaft sehen.

Offenbar sind das zum Teil jene Myophrisken, von denen die

Autoren angeben, daß sie auf das Ectoplasma heruntergefallen seien. Ein Herunterfallen, respektive ein Herausgleiten der Myophrisken aus den elastischen Zugfasern ist wohl möglich, doch dürfte dasselbe keineswegs häufig zu beobachten sein. — Gemäß ihrer Entstehung bestehen die Myophrisken aus Chromatin. Auch ihre Färbbarkeit mit Chromatinfarbstoffen spricht dafür. Die Myophrisken bestehen aus zwei breiteren oder schmäleren Chromatinstreifen, welche durch eine schmale protoplasmatische nicht färbbare Partie der Länge nach voneinander getrennt sind. Fig. S stellt einen Myophrisken dar, dessen beide Chromatinstreifen stark eingerollt sind. — Gewöhnlich ist das Chromatin gleichmäßig auf dem ganzen Myophrisk verteilt. Myophrisken, die längere Zeit in Funktion waren, erfahren, wie es scheint, eine weitgehende Veränderung ihres Chromatins, manche sind sogar ganz farblos und nur schwer von der hyalinen Zugfaser zu unterscheiden, in welche sie eingebettet sind, andere sind nur an einzelnen Stellen mit Chromatin bedeckt, so daß sie wie gefleckt ausschauen. Diese Veränderung der Myophrisken in bezug auf ihr Färbungsvermögen kann auch eine Folge der Abgabe ihres Chromatins an die Zugfasern sein. Hertwig's Beobachtung, daß die Myophrisken contractil sind, gewinnt sehr an Wahrscheinlichkeit dadurch, daß einer von uns (Moroff 09)) festgestellt hat, daß bei den Copepoden die Muskelfasern ebenfalls durch Umwandlung der Kerne gebildet werden. Allerdings konnten wir niemals eine muskelähnliche Querstreifung an den Myophrisken beobachten, wie dies von Popofsky und Mielck behauptet wird. Auch sind wir nicht in der Lage, uns eine Vorstellung von der mechanischen Funktion der Myophrisken zu bilden. Sie sind in die plasmatischen Zugfasern eingebettet und inserieren direkt weder an den Stacheln noch an der Oberfläche der extrakapsulären Schicht, wie dies allgemein angenommen wird. Wir sind der Ansicht, daß auch diese plasmatischen Differenzierungen eine mechanische Arbeit leisten und der von ihnen verbrauchte Stoff durch die Myophrisken ersetzt wird. Für diese Ansicht spricht ein Befund Schewiakoff's (02), der beobachtete, daß „eine vom distalen Fixationspunkte losgerissene Gallertcilie von den den Stacheln umgebenden ectoplasmatischen Fäden ergriffen und mit dem distalen Ende wieder an die ursprüngliche Stelle fixiert wurde“ (citiert nach Popofsky (04)).



Fig. S. Myophrisk.
Vergr. 2250 : 1.

III. Allgemeiner Teil.

A. Die „gelben Zellen".

Im speziellen Teile haben wir im Gegensatz zu der herrschenden Ansicht die in *Acanthometron* vorkommenden gelben Gebilde nicht als Algenzellen, welche in Symbiose mit dem Organismus leben sollen, sondern als trophische Kerne (Macronuclei) angesehen. Wir betrachten also diese Gebilde als dem Organismus zugehörig. Zu dieser Annahme sehen wir uns durch den Umstand veranlaßt, daß es uns gelang, Schritt für Schritt ihre Entstehung, ihre Entwicklung und ihr Schicksal zu verfolgen. Wir konnten eine lückenlose Reihe der nötigen morphologischen Bilder zusammenstellen. Dagegen ergaben sich keinerlei Anhaltspunkte entwicklungsgeschichtlicher Natur, welche zugunsten der Annahme sprechen würden, daß wir es hier tatsächlich mit symbiontischen Algenzellen zu tun haben. Uns bestärkt in unserer Annahme ferner das Verhalten der chromatischen Platten, insbesondere aber die Bildung von Myophrisken aus diesen Platten. Es wäre eine zu wunderbare Erscheinung, daß ein Organismus (die Algenzelle) die Organe für einen anderen ganz fremden Organismus (die *Acanthometra*) bilden sollte.

Wir wollen uns jetzt die Gründe näher betrachten, welche die Autoren veranlaßt haben, diese Gebilde als Algenzellen anzusehen. Zunächst wollen wir hervorheben, daß die älteren Autoren J. MÜLLER, HAECKEL und zuletzt R. HERTWIG die „gelben Zellen" als integrierende Bestandteile des Organismus angesehen haben.

STUART (1866) bezeichnet bei *Globigerina echinoides* (*Coscinosphaera ciliosa*) diese Gebilde sogar als Kerne, ohne einen Grund dafür anzugeben.

Wie bekannt, sind gefärbte Elemente im tierischen Organismus eine weitverbreitete Erscheinung. Sie haben daher auch frühzeitig die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich gelenkt. Sie wurden zuerst von HUXLEY (1851) bei Radiolarien beobachtet und von ihm sowie von einer Anzahl späterer Autoren als wesentliche Teile des Tierleibes und als Erzeugnisse des Tieres selbst angesehen. Erst CIENKOWSKI (1871) hat die Behauptung aufgestellt, daß wir es hier mit Algen zu tun haben, welche in Symbiose mit den Tieren leben. Dieser Auffassung haben sich alle späteren Autoren angeschlossen. Wir wollen diese Frage nicht diskutieren, da wir ihre Richtigkeit im allgemeinen nicht bezweifeln. Wir sind jedoch der Ansicht, daß, nachdem für eine größere Anzahl von Fällen die Algennatur fest-

gestellt wurde, man sich hinreißen ließ und auch andere ähnliche Gebilde für Algen erklärte, welche in Wirklichkeit dem Organismus selbst angehören. Als zur letzteren Kategorie gehörige Gebilde betrachten wir eben die „gelben Zellen" der *Acanthometriden*. Alle Autoren, welche sich mit der Natur dieser Gebilde befaßten, haben hervorgehoben, daß sie weitgehende Differenzen gegenüber den ähnlichen Bildungen bei anderen Radiolarien an den Tag legen. Im Gegensatz zu dem Verhalten bei anderen Radiolarien, wo sie bei Behandlung mit Schwefelsäure blasser, sehr hellgelblich oder grünlich werden, nehmen sie nach Schwefelsäurebehandlung bei den *Acanthometriden* eine spangrüne Färbung an. Ferner besitzen die echten gelben Zellen der anderen Radiolarien eine derbe Membran, die den ähnlichen Bildungen der *Acanthometriden* fehlt. Endlich befinden sich die „gelben Zellen" bei den *Acanthometriden* im Innern der Zentralkapsel, während sie bei den anderen Radiolaren in der extrakapsulären Sarcode liegen.

Als wichtigsten Beweis für die Algennatur dieser Elemente wird die Sauerstoffproduktion angesehen. In einem Präparat von *Collozoum* und *Acanthometra*, welches eine Zeitlang dem direkten Sonnenlichte exponiert war, sammeln sich nach Brandt's Angabe die dazugesetzten Bakterien und Infusorien in der unmittelbaren Nähe sowohl des *Collozoum* als auch der *Acanthometra*. Es muß also durch die erfolgte Assimilation der Kohlensäure in Stärke eine Produktion von Sauerstoff stattgefunden haben, was aus der Zuwanderung der Bakterien zu erschließen ist.

Wir können jedoch diesem Experiment nicht jene hohe Beweiskraft einräumen, die man ihm für gewöhnlich zuschreibt. Obwohl uns die Jodreaktion nicht gelang, halten wir das Vorkommen von Stärke oder eines anderen ihr ähnlichen Assimilates für sehr wahrscheinlich. Wir sind also der Ansicht, daß auch im Tierreich Fälle vorkommen können, wo die Tiere durch Ausbildung der nötigen Vorrichtungen sich Kohlensäure als Nahrung anzueignen imstande sind. Ein solcher Fall ist unserer Meinung nach bei den *Acanthometriden* gegeben.

Die Verhältnisse, wie sie bei diesen Protozoen vorliegen, sind in hohem Grade geeignet, die von einem von uns (Moroff 09) geäußerte Ansicht zu unterstützen, daß die Chromatophoren der Pflanzen aus dem Kern ausgewanderte Gebilde darstellen, welche einem trophischen Kern oder einem Dotterkern als homolog anzusehen wären. Dadurch heben sich die Aussichten bedeutend, die Doppelwertigkeit des Zellkerns, wie diese Theorie zuerst von Schaudinn entwickelt,

von GOLDSCHMIDT, MOROFF, PROWAZEK und HARTMANN u. a. weiter ausgebaut wurde, auch auf die Pflanzen mit Erfolg ausdehnen zu können.

B. Systematische Stellung der *Acantharia*.

Der Einblick in die Entwicklung des Zentralkapselinhalts von *Acanthometron* sowie die Erkenntnis, daß die sogenannten gelben Zellen der Acantharia die trophischen Kerne dieser Tiere selbst darstellen, läßt die ganze Organisation und systematische Stellung dieser Radiolarien in einem neuen Lichte erscheinen.

Auf Grund der dargestellten Entwickluug müssen wir annehmen, daß die Acantharia keine einfachen Tiere sind, sondern Kolonien von Tieren darstellen, denen die extrakapsuläre Sarcode, die Pseudopodien und das Achsenskelet gemeinsam ist. Allerdings wechselt die ihnen von HERTWIG angewiesene Stellung im System nicht, da er sie auf Grund ihrer Kernverhältnisse nicht den Colliden sondern mehr den Sphärozoen anschloß. Durch die weitgehende morphologische und physiologische Differenzierung bleiben jedoch Sphärozoen und Acantharia als zwei selbständige Gruppen der koloniebildenden Radiolarien nebeneinander bestehen. Bei den Acantharia ist teilweise eine Arbeitsteilung zwischen den Individuen einer Kolonie eingetreten, indem ganze Kerne (Merozoiten) sich zu Myophrisken umwandeln können oder ganze Merozoiten sich zu rein vegetativen Individuen entwickeln, indem ihr Kern sich ganz in einen trophischen Kern umwandelt. Solche Individuen tragen lediglich zur Vermehrung der Grundsubstanz (Nährsubstanz) bei, in welcher sich die von den übrigen Individuen herstammenden Geschlechtskerne vermehren und zuletzt die Schwärmer bilden. Bei den Sphärozoen ist eine solche Differenzierung der Individuen nicht zu konstatieren.

Ob Sphaerozoen und Acantharia aus einer gemeinsamen Wurzel stammen, läßt sich bei dem derzeitigen Stande unserer Kenntnisse über die erste Gruppe nicht mit Bestimmtheit sagen.

Durch das Auftreten von Chromatophoren ähnlichen Elementen bei den *Acanthometriden* lassen sich andererseits verwandtschaftliche Beziehungen zu den einzelligen Algen anknüpfen. Ob aber diese Ähnlichkeit rein physiologischer Natur ist, oder ob sich dafür auch phylogenetische Momente anführen lassen, ist eine Frage, die sich bei dem gegenwärtigen Stande unserer Kenntnisse nicht sicher entscheiden läßt.

Zusammenfassung.

Acanthometron pellucidum ist kein einzelnes Individuum, sondern eine Kolonie von Tieren. Durch wiederholte Vermehrung der einzelnen die Kolonie zusammensetzenden Individuen findet eine allmähliche Ausfüllung der Zentralkapsel statt. Die ausgefüllte Zentralkapsel platzt und die austretenden zweigeißeligen Schwärmer bilden sich zu neuen Acanthometren aus. Die sogenannten „gelben Zellen" (Algenzellen) sind keine dem Organismus des Radiolars fremden Gebilde, sondern Kerne (trophische Kerne der einzelnen Individuen). Die Myophrisken sind Kernderivate und entstehen im Innern der Zentralkapsel.

Triest, K. K. zoologische Station, Dezember 1908.

Literaturverzeichnis.

Borgert, A. (98): Beiträge zur Kenntnis des in Sticholonche zanclea und Acanthometridenarten vorkommenden Parasiten (Spiralkörper, Fol; Amoebophrya Köppen). in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 63 p. 142—186 Taf. VIII.

Brandt, Karl (83): Über die morphologische und physiologische Bedeutung des Chlorophylls bei Tieren. in: Mitteil. Zool. Stat. Neapel Bd. IV p. 191—302 Taf. 19, 20.

— (85): Die koloniebildenden Radiolarien des Golfes von Neapel und der angrenzenden Meeresabschnitte. Eine Monographie. in: Fauna und Flora des Golfes von Neapel Bd. XIII 276 S. 8 Taf.

Cienkowski, L. (71); Über Schwärmerbildung bei Radiolarien. in: Arch. f. mikr. Anat. Bd. 7 p. 371—381 Taf. 29.

Haeckel, Ernst (62): Die Radiolarien (Rhizopoda radiaria). Eine Monographie. Berlin 1862. 572 S. 35 Taf.

Hertwig, Richard (79): Der Organismus der Radiolarien. in: Jena'sche Denkschr. II. 3 149 S. 10 Taf.

Keeble, Fr. (08): The Yellow-Brown cells of convoluta paradoxa. in: Quart. Journ. of micr. Sc. New Ser. No. 208 Vol. 52 P. 4 p. 431—481 3 plates.

Mielck, W. (08): Acanthometra von Neu-Pommern. in: Wiss. Unters. deutsch. Meere N. F. Bd. X 64 S. 5 Taf.

Moroff, Theodor (08): Die bei den Cephalopoden vorkommenden Aggregataarten als Grundlage einer kritischen Studie über die Physiologie des Zellkerns. in: Arch. f. Protistenk. Bd. 11 p. 1—224 Taf. 1—11.

— (09): Oogenetische Studien. I. Copepoda. in: Arch. f. Zellforschung Bd. II 432—493 S. 34—36 Taf.

— (09): Die physiologische Bedeutung des Kerns bei der Entstehung der Muskeln. in: Centralbl. f. Phys. Bd. XXII Nr. 20.

MOROFF, THEODOR u. STIASNY, GUSTAV (08): Über den Bau und die Fortpflanzung von Acanthometra. (Vorl. Mitteilung.) in: Centralbl. f. Phys. Bd. XXII Nr. 19 4 S. 4 Fig. im Text.

POPOFSKY, A. (04): Die Acantharien der Plankton-Expedition. Teil I. Acanthometra. in: Ergebn. d. Plankton-Exp. 158 S. 12 Taf.

PORTA, ANTONIO (01): Contributo allo studio degli Acanthometridi. Milano. 11 S. 2 Taf.

SCHEWIAKOFF, W. (02): Beiträge zur Kenntnis der Radiolaria-Acanthometra, Petersburg.[1])

STUART, ALEXANDER (66): Über Coscinosphaera ciliosa, eine neue Radiolarie. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 16 p. 328—345 1 Taf.

Es wurden hier nur die für die vorliegende Arbeit unmittelbar in Betracht kommenden Publikationen angeführt. Für die sonstige Literatur über Acantharia verweisen wir auf die ausführlichen Literaturverzeichnisse in den Arbeiten MIELCK's (08) und POPOFSKY's (04).

Tafelerklärung.

Tafel XIII.

Fig. 1. Habitusbild von *Acanthometron pellucidum* J. M. Vergr. 400 : 1.

Tafel XIV.

Fig. 2. Schizont mit zahlreichem Micronuclei zwischen den Platten des erwachsenen Macronucleus. Oberflächliche Einstellung. Vergr. 2250 :1.

Fig. 3. Schizont mit aufgelöstem Macronucleus. Vergr. 2250 : 1.

Fig. 4. Schizont mit sich ablösenden Merozoiten. Vergr. 2250 : 1.

Fig. 5. Schizont nur mit Macronuclei. Vergr. 2250 : 1.

Fig. 6. Schizont mit zwei Macronuclei und vielen Micronuclei. Vergr. 2250 : 1.

Fig. 7. Macronucleus mit Ausbildung eines Myophrisken. Vergr. 2250 : 1.

Fig. 8. Auswanderung eines Myophrisken aus einem Macronucleus. Vergr. 2250 : 1.

[1]) War uns nur im Referate [Neapler Jahresbericht] zugänglich.

(Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg.
Leiter: Med.-Rat. Prof. Dr. Nocht.)

Über ein Leucocytozoon bei einem ostafrikanischen Perlhuhn (*Guttera pucherani* HARTL.).

Von

Dr. G. Keysselitz und Dr. **Martin Mayer**.

(Von der Expedition der Hamburgischen Wissenschaftlichen Stiftung nach Deutsch-Ostafrika 1907/08.)

(Hierzu Tafel XV.)

Seit der Arbeit SCHAUDINN's über Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosomen und Spirochäten ist die Frage der Entwicklung der zuerst von DANILEWSKY beschriebenen Leucocytozoen von den verschiedensten Seiten in Angriff genommen worden, ohne daß inzwischen eine beweiskräftige Bestätigung oder Nichtbestätigung von SCHAUDINN's Ansichten erhalten werden konnte. Es dürfte daher vorläufig jeder Beitrag zur Kenntnis dieser Protozoen für die Entscheidung obiger Frage von Wert sein.

Gelegentlich unseres Aufenthaltes in Deutsch-Ostafrika hatten wir Gelegenheit, bei einem Schopfperlhuhn (*Guttera pucherani* HARTL.) ein Leucocytozoon zu beobachten, über dessen Charakteristika wir unter Vergleich mit den bisherigen Befunden in folgendem berichten möchten.

Die charakteristische häufig beschriebene Form dieser Gruppe von Parasiten ist ein spindelförmiges, an den Enden fein zugespitztes Gebilde, in dem bei Giemsafärbung innerhalb einer helleren grau-

roten Plasmaschicht sich ein mehr oder weniger dunkel färbbarer bläulicher oder rötlicher zweiter Plasmakörper befindet, der eine kleinere oder größere Chromatinmasse enthält. Daneben befindet sich in dem Gebilde ein mehr oder weniger deformierter Zellkern, der Leucocytenkernen am ähnlichsten sieht. Außer dieser Form sind auch runde mehrfach beobachtet.

Schon die ersten Beobachter haben sich die Frage vorgelegt, was die äußere Plasmahülle zu bedeuten habe, in was für Zellen die Parasiten schmarotzen. Bereits Danilewsky sagt 1890: „Aussehen und Dimension des Kernes vollständiges Fehlen von Pigment und Hämoglobin, die Charaktere der homogenen und lamelliformen Kapsel und die Gesamtgröße des Körpers beweisen, daß der Parasit nicht in ein rotes Blutkörperchen, sondern in einen Leucocyten im Zustande der Degeneration eingeschlossen ist.“ Im weiteren Verlauf der gleichen Arbeit kommt Danilewsky zum Schlusse, daß die Wirtszelle nicht ein Leucocyt, sondern ein Hämatoblast sei (die damals ja noch zur Gruppe der Leucocyten gerechnet wurde). Danilewsky hat auch schon richtig erkannt, daß die Biskuitform des ursprünglichen Zellkerns dadurch zustande kommt, daß der heranwachsende Parasit ihn presse. Er sah die Leucocytozoonformen besonders häufig im Knochenmark; im Präparat sah er auch Geißelung (Polymitus); in einer zweiten Arbeit bildet er eine scheinbare Doppelinfektion ab. Er bezeichnet die Parasiten als Leucocytozoa und Ziemann führte dann diesen Namen bei ausführlicher Beschreibung eines gleichen Parasiten ein, der seitdem den Nomenklaturbestimmungen gemäß als *Leucocytozoon ziemanni* bezeichnet wurde. Der von Laveran vorgeschlagene Name *Haemamoeba ziemanni* hat sich nicht eingebürgert. Betreffs der Wirtszellen kam Sakharoff, Laveran, Schaudinn und Wenyon zu den gleichen Anschauungen wie Danilewsky. Sakharoff glaubte aber, daß auch Lymphocyten befallen werden können, eine Frage, die sich bei der morphologischen Ähnlichkeit der Gebilde schwer entscheiden ließ. Berestneff bestritt 1904 wiederum nach seinen Befunden bei Eulen, Krähen und Elstern, daß die Wirtszellen Hämatoblasten sind, und glaubt, daß es sich um große Lymphocyten handelt. Er will auch Eindringen jüngerer Parasiten in den Kern beobachtet haben.

Aber nicht nur die Frage betreffs der Stellung der Wirtszellen ist als strittig betrachtet worden, sondern vor allem hat die Hypothese Schaudinn's, daß bei diesen Parasiten Ruhe und Bewegungsstadien wechseln und daß erstere nicht in der Zelle schmarotzen, sondern die beweglichen Formen beim Übergang ins Ruhestadium

den Erythroblasten in sich aufnehmen, neue Fragen aufgeworfen. Auf die bekannte Hypothese SCHAUDINN's hier ausführlicher einzugehen, würde zu weit führen, es sei nur ganz kurz bemerkt, daß er die oben beschriebenen spindelförmigen Gebilde als Ruhestadien auffaßt und große charakteristische Trypanosomen als die Bewegungsform der Parasiten. Vor allem das Fehlen irgendwelcher Zeichen einer Schizogonie haben ihn mit zu dieser Hypothese geführt. Die Hauptentwicklung der Parasiten legte er dem Befund nach in die hämatopoetischen Organe (Milz und Knochenmark).

Eine Arbeit von DUTTON, TODD und TOBEY über Leucocytozoon steht ganz unter dem Einfluß der SCHAUDINN'schen Hypothese. Die äußere Hülle der Parasiten wird von jenen Autoren als Periplast angesprochen, das eigentliche Plasma als Endoplast. Nach den offenbar beim Ausstreichen beschädigten und schlecht gefärbten Präparaten beschreiben sie auch merkwürdige Gebilde, eine sogenannte „line“, die sie in Beziehung zum Kern und zur Entwicklung des Geißelapparates nach SCHAUDINN bringen. Diese „line“ ist sicher eine bei der Präparation entstandene Falte, die sich dementsprechend färbt. Uns interessierte besonders, daß sie auch junge Formen abbilden, von denen aber nur einzelne dem entsprechen, was wir im folgenden beschreiben wollen. Sie sagen aber, „daß junge Formen kleiner als die abgebildeten vorkommen, bei denen es unmöglich ist, irgendeine Struktur zu entdecken, außer der Anwesenheit einer Spur von Chromatin in einer etwas breiteren Zone von blauem Protoplasma.“ Auch freie junge Formen wollen sie einmal oder zweimal im Plasma gesehen haben, „was dafür spräche, daß sie ohne Entwicklung eines Geißelapparates von Zelle zu Zelle wandern könnten“. Vor kurzem hat WENYON vom Sudan ein Leucocytozoon ausführlich beschrieben, das schon früher von NEAVE beobachtet war (*L. neavei*) und das gleichfalls bei einem Perlhuhn (*Numidia ptilorrhynchus*) parasitiert; er hat dabei eine Reihe ähnlicher Beobachtungen gemacht, wie wir bei unseren Präparaten in Ostafrika. Während des Lebens fand er nur spindelförmige Parasiten, die aber nur 1—2 Stunden nach dem Tode schon mehr unregelmäßige Gestalt annehmen; innerhalb der Spindel sah er Bewegungen der Parasiten. Nach 3—4 Stunden kam Zerfall der Wirtszelle und Austritt und Abrundung der Gametocyten zustande. Geißelung der Microgametocyten wurde im frischen Präparat nicht beobachtet. Zweimal sah er Trypanosomen, die trotz einiger Ähnlichkeit mit den Leucocytozoen nach seiner Ansicht nichts mit ihnen zu tun haben. WENYON kommt zu einer Ablehnung der SCHAUDINN'schen Hypothese besonders

wegen Beobachtung von Doppelinfektionen, von spindelförmigen Erythrocyten ohne Parasiten und mit Proteosoma infizierter roter Blutkörper. Als Wirtszellen sieht auch er die Erythroblasten an. Er bildet auch jüngere Parasiten ab, fand aber gleichfalls niemals Schizogonie.

Unser eigener Befund eines Leucocytozoons wurde im Dezember 1907 in Amani (Ostusambara) in Deutsch-Ostafrika bei einem Schopfperlhuhn, *Guttera pucherani* (Hartl.), erhoben. Das Tier gelangte einige Stunden nach dem Tode in unseren Besitz. Im frischen Blutpräparat wurden spindelförmige und abgerundete Leucocytozoen gesehen, die wohl hin und her flottierten, aber völlig unbeweglich waren. Auch Geißelung wurde nicht beobachtet. Außerdem wurden noch lebende Filarien und Trypanosomen, und zwar kleinere und größere, sowie Halteridien im Blute gefunden. Es wurden Ausstriche aus peripherem, Herz- und Lungenblut angefertigt. Die zu schildernden Befunde beziehen sich auf diese Ausstriche. Ein wesentlicher Unterschied bezüglich der gesehenen Formen wurde dabei in den verschiedenen Präparaten nicht erhoben.

Die gefundenen Formen der Leucocytozoen sind nach gefärbten Präparaten im wesentlichen folgende:

1. Spindelförmige Formen. Unter diesen sind, wie von anderen Autoren schon beobachtet, männliche und weibliche Formen zu beobachten. Erstere sind kleiner, innerhalb der äußeren grauen Hülle liegt ein hellrot gefärbter, meist viel zerstreutes Chromatin enthaltender, ovaler Körper, an dessen einen Seite der Kern der Wirtszelle angepreßt und mehr oder weniger deformiert erkennbar ist. Die weiblichen in den Ausstrichen viel zahlreicher vorhandenen, meist erheblich größeren Formen zeichnen sich durch dunkles blaues Protoplasma aus, manchmal mit kleinen rundlichen, helleren Stellen versehen. Der Kern ist kompakt, oft ist an ihm ein Innenkörper deutlich erkennbar. In einzelnen Exemplaren findet man außer dem Hauptkern noch ein blepharoplastartiges Gebilde. Der mehr oder weniger deformierte Zellkern ist meist an die Seite gepreßt (Fig. 9 und 10), es kommen aber auch Parasiten vor, bei denen er mitten auf dem Plasma derselben liegt (Fig. 8). Nicht immer ist die Spindelform ausgeprägt, sondern es finden sich auch längliche Parasiten, mit an den Enden abgerundeter Kapsel, wie der in Fig. 7 abgebildete. Ob es sich hier um Formveränderungen durch den Tod des Wirtstieres handelt, ist nicht sicher zu entscheiden, aber nicht wahrscheinlich, da auch das Plasma der Parasiten hier länger

wurstförmig ausgestreckt ist wie sonst. Vielleicht sind es jüngere, gerade erwachsene Formen.

2. Abgerundete Formen (Fig. 13—22), nämlich runde Parasitenformen ohne Einschluß des Kernes der Wirtszelle. Solche runden Formen sind bereits mehrfach beschrieben worden. Zum Teil kommen sie wohl erst nach dem Tode des Wirtstieres bzw. einige Zeit nach der Blutentnahme dadurch zustande, daß die Gameten den Kern der Wirtszelle ausstoßen und sich zur Befruchtung vorbereiten. So sind auch bereits verschiedentlich Geißelungen der Microgametocyten unter dem Deckglas beobachtet worden. Auch wir konnten unter den runden Formen weibliche und männliche Individuen unterscheiden. Bei allen diesen Formen war die äußere Hülle stets noch vollständig oder zum Teil erkennbar, indem sie entweder als kreisförmige graue Scheibe oder auch in mehr unregelmäßiger Form den Parasiten umgab. Bei einem solchen waren die beiden Enden noch wie bei den großen Individuen spitz ausgezogen (Fig. 19). Bei den als weibliche Formen angesprochenen wurden mehrfach große, vacuolenartige, hellere Stellen beobachtet (Fig. 16, 17, 18), dieselben scheinen keine Kunstprodukte zu sein. Diese vacuolenartigen Stellen könnten mit dem Reifezustande der Zelle im Zusammenhang stehen, wobei der Kolloidzustand des Protoplasmas eine Änderung erfährt. Aus diesem Grunde tauchen auch in Halteridium, Proteosoma, und Malariagameten Vacuolen auf, und ihr Pigment gerät in eine lebhafte Bewegung.

Bei einem der abgebildeten rundlichen Parasiten (Fig. 14) hatte das Plasma der umgebenden Hülle deutliche Erythrocytenfarbe, wie auch aus dem beigefügten benachbarten roten Blutkörper ersichtlich.

Die als männliche angesprochenen Formen (Fig. 19—22) zeigten fast alle bereits einen Zerfall des Kernchromatins, das bei einzelnen nur stark aufgelockert erschien, bei anderen bereits zerstreut lag. Es hatte vielleicht bei einem Teil derselben bereits Geißelung stattgefunden, die aber weder im frischen, noch im gefärbten Präparate nachgewiesen werden konnte.

3. Heranwachsende Formen (Fig. 1—6). Wie bereits oben erwähnt, haben einzelne der früheren Autoren schon kleinere Parasitenformen beschrieben in noch runden Wirtszellen, die sie für Jugendformen hielten. Uns ist es nun gelungen, in unseren Präparaten von ganz jungen, eben erkennbaren Parasiten an bis zur Ausbildung der typischen Spindelform alle Übergänge zu beobachten. Die jüngsten Formen sind kleinste, längliche, lichtblaue Gebilde mit zentral gelegenem rundem

Chromatinkorn, die im Protoplasma runder lymphocyten- bzw. erythroblastenähnlicher Zellen liegen. Der Kern der Wirtszelle ist bei den jüngsten Formen noch nicht verändert, aber schon bei den etwas größeren Formen beginnt die Deformation des Zellkernes, obwohl es den Anschein hat, als ob der kleine Parasit noch Platz genug im Protoplasma der Zelle hätte. Die Deformation beginnt mit kreisförmiger Einbuchtung, es macht öfters den Eindruck, als ob der Kern sich glockenförmig über den Parasiten stülpe. Das Plasma der befallenen Zellen erscheint meist frühzeitig verändert, es färbt sich krümelig, unregelmäßig. Die heranwachsenden endoglobulären Parasiten selbst nehmen später fast ausnahmslos den Farbton an, wie er bei den abgerundeten als weibliche Formen angesprochenen Gebilden vorhanden ist. Männlichen Formen entsprechende Färbungen und Kernverhältnisse wurden niemals beobachtet. Ein schon fast ausgewachsener Parasit zeichnete sich dadurch aus, daß er nicht nur die mehr leuchtend blau, durch kleine Vacuolen unterbrochene Plasmafarbe der weiblichen Spindelformen aufwies, sondern durch Andeutung einer Spalte schon als wurstförmiger, noch zusammengeklappter Parasit sich repräsentierte (Fig. 6). Aus dieser Form dürfte zweifellos durch Auseinanderklappen der Enden zunächst eine ovale wurstförmige Gestalt (Fig. 7) und dann die typische Spindelform entstehen. Der Kern war bei diesen Parasiten übrigens nicht erkennbar, sondern nur eine Reihe runder, zerstreut liegender Chromatinpunkte. Vielleicht handelt es sich um eine Auflösung des Kerns in einzelne Chromidien, wie sie ja als zeitweise auftretend vielfach angenommen wird.

Aus diesen heranwachsenden Formen ergibt sich zweifellos, daß die Parasiten endoglobulär parasitieren. Die befallenen Wirtszellen sind, wie die Mehrheit der Autoren annimmt, sicherlich Erythroblasten. Das geht schon aus dem Aussehen der Zellkerne, besonders bei den erwachsenen Formen, hervor, die viel mehr Ähnlichkeit mit Erythrocytenkernen als mit solchen von Leucocyten haben. Daß auch ausnahmsweise bereits hämoglobinhaltige Erythrocyten befallen werden können, ist aus Fig. 14 ersichtlich; daß es sich dabei etwa um einen Gameten von Halteridium handle, ist wegen der Größe und Form der Parasiten, die mit den anderen übereinstimmen, sowie des Fehlens von Pigment ausgeschlossen.

Die von Schaudinn, Dutton, Todd und Tobey als Periplast angesprochene Hülle ist also nach unseren Befunden zweifellos das Plasma der Wirtszelle. Die Spindelform dürfte durch rein physi-

kalische Vorgänge bedingt sein; wie Wenyon konnten auch wir übrigens gar nicht selten parasitenfreie rote Blutkörper sehen, deren Enden spitz ausgezogen waren (Fig. 12).

Was die Entwicklung der Parasiten im Warmblüter betrifft, so konnten auch wir, wie alle früheren Beobachter, keine Schizogonie nachweisen. Der Befund jüngster Parasiten aber läßt es als höchstwahrscheinlich erscheinen, daß doch eine solche Schizogonie statthat. Vielleicht gehören die beobachteten runden Formen, die wohl weiblichen Gameten ähneln, aber meist etwas helleres Protoplasma und einen mehr aufgelockerten Kern zeigen, gar nicht alle zu den Geschlechtsformen, sondern sind zum Teil ungeschlechtliche, reife Formen (besonders die mit den scharf umschriebenen Vacuolen), die in irgendwelchen inneren Organen zur Teilung gelangen.

Betreffs des Auftretens von Bewegungsstadien, wie sie Schaudinn beim Leucocytozoon der Eule beobachtet hat, möchten wir bei unseren Leucocytozoen einen Zusammenhang mit den gesehenen Trypanosomen nicht annehmen. Es sei aber ausdrücklich erwähnt, daß wir bei zahlreichen untersuchten Eulen bisher niemals junge Entwicklungsformen sahen, wie bei unseren Leucocytozoen des Perlhuhnes und daß vieles dafür spricht, daß trotz vieler morphologischer Ähnlichkeiten die verschiedenen Leucocytozoen eine ganz verschiedene Entwicklung durchmachen; auch nach eigenen Beobachtungen bei verschiedenen Halteridien geht für diese ein Gleiches hervor; wir möchten dies deshalb besonders erwähnen, weil aus derartigen Befunden bei anderen Wirtstieren auf eine Widerlegung der Schaudinn'schen Arbeiten — wie dies mehrfach geschehen — keineswegs geschlossen werden kann, bevor der Zyklus des Leucocytozoons von Athene noctua einwandsfrei dargestellt ist.

Zusammenfassung.

In Ostafrika wurde bei einem Perlhuhn, *Guttera pucherani* (Hartl.), ein Leucocytozoon gefunden. Außer den typischen spindelförmigen Parasiten, unter denen sich männliche und weibliche Formen unterscheiden ließen, wurden auch abgerundete, in Plasmakapseln ohne Kern der Wirtszelle liegende beobachtet, die größtenteils Gameten vor der Befruchtung darstellen dürften. Vor allem aber wurde das Heranwachsen der Parasiten von ganz kleinen, eben sichtbaren, aus blauem Protoplasma mit zentral gelegenem Chromatinkorn bestehenden endoglobulären Formen bis zu den großen Spindeln durch Beobachtung

aller Übergangsstadien nachgewiesen. Die Wirtszellen sind Erythroblasten.

Literaturverzeichnis.

Berestneff: Über das Leucocytozoon Danilewsky. Arch. f. Protistenk. Bd. 3 1904 p. 376.

Danilewsky: Développement des parasites malariques dans les leucocytes des oiseaux (Leucocytozoaires). Ann. Pasteur Bd. 4 1890 p. 427.

—: Über den Polymitus malariae. Centralbl. f. Bakteriol. Bd. 9 1891 p. 397.

Dutton, Todd u. Tobey: Concerning certain parasiting protozoa observed in Africa. Ann. of trop. med. and paras. Bd. 1 1907 p. 287.

Laveran: Contributions à l'étude de Haemamoeba Ziemanni. C. R. de la Soc. biol. Bd. 55 1903 S. 620.

—: Sur une Haemamoeba d'une mésange (Parua major). C. R. de la Soc. biol. Bd. 54 1902 p. 1123.

Sakharoff: Recherches sur les hématozoaires des oiseaux. Ann. Pasteur Bd. 7 1893 S. 801.

Schaudinn: Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosomen und Spirochäten. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 20 1904 p. 387.

Wenyon: Report of travelling Pathologist etc. Third Report Wellcome Research Laborat. Khartoum 1908 p. 157.

Ziemann: Über Malaria und andere Blutparasiten. Jena 1898.

Tafelerklärung.

Fig. 1—5. Heranwachsende Formen.

Fig. 6. Fast erwachsene Form im zusammengeklappten Zustande.

Fig. 7. Erwachsener weiblicher Parasit in ovaler Wirtszelle.

Fig. 8—10. Erwachsener weiblicher Parasit in typischer Spindelform.

Fig. 11. Erwachsener männlicher Parasit in typischer Spindelform.

Fig. 12. Spindelförmig ausgezogenes rotes Blutkörperchen.

Fig. 13. Abgerundete weibliche Form ohne Kern der Wirtszelle (die noch weite Kapsel zeigt an einer Seite noch Andeutungen der spindelförmigen Ausziehung)

Fig. 14. Abgerundete weibliche Form in hämoglobinhaltiger Kapsel.

Fig. 15. Abgerundete weibliche Form, ausgestoßener Kern daneben.

Fig. 16—18. Abgerundete weibliche Formen mit Vacuolen.

Fig. 19. Männliche Form ohne Kern der Wirtszelle, noch spindelig ausgezogen.

Fig. 20—22. Verschiedene abgerundete männliche Formen. Fig. 22 offenbar schon nach teilweiser Geißelung.

Giemsa-Färbung. Vergrößerung Okular 4, Apochr. 2 mm. Tischhöhe.

(Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten zu Hamburg.
Leiter: Medizinalrat Prof. Dr. Nocht.)

Beiträge zur Naturgeschichte der Malariaplasmodien.

Von
Herbert v. Berenberg-Gossler.

(Hierzu Tafel XVI—XVIII.)

Einleitung.

Wenn wir die Literatur über die Naturgeschichte der Malariaparasiten durchsehen, finden wir nur verhältnismäßig wenig Arbeiten über die Plasmodien der Affen. Es dürfte von Interesse sein, die morphologischen und biologischen Eigenschaften dieser Blutparasiten, welche denjenigen des Menschen am nächsten verwandt sind, mit letzteren zu vergleichen. Diesbezügliche Angaben sind aber in der Literatur nur spärlich vorhanden und beziehen sich dann mit wenigen Ausnahmen nur auf grobe morphologische Unterschiede.

Koch entdeckte 1898 in Ostafrika bei Meerkatzen und Hundsaffen eine Plasmodienart, welche später Kossel beschrieb. Es wurden nur Gametocyten und ältere Ringformen beobachtet, welche Ähnlichkeit mit den menschlichen Tertianparasiten haben sollten. Ziemann fand bei einer Meerkatze der menschlichen Tropica ähnelnde Parasiten, ähnliche bei Schimpansen, welche von Lühe in Mense's Handbuch der Tropenkrankheiten kurz beschrieben und abgebildet wurden. Dutton, Dodd und Tobey sahen ähnliche Formen. Wie Mayer annimmt, handelt es sich bei allen Autoren um die gleiche Parasitenart, nämlich *Plasmodium kochi*.

Die schizogonische Entwicklung dieses Plasmodiums wurde von keinem der Autoren beobachtet, bis Gonder und ich dieselbe in einer vorläufigen Mitteilung beschreiben konnten.

Ausführlichere Beschreibungen finden sich in der Literatur über Malariaparasiten der Affen aus Niederländisch Indien.

Halberstädter und Prowazek fanden im Blute von *Pithecus satyrus* und einigen Makakusarten auf Java zwei neue Plasmodiumarten. Der Parasit des Orang-Utans, *Plasmodium pitheci*, ähnelt im jungen Stadium dem menschlichen Tropicaerreger, später treten einzelne, anfangs runde, in der Folge längliche Pigmentkörner auf, welche dem Quartanapigment ähnlich sind. Der Kern erfährt allmählich eine Auflockerung und Vergrößerung. An geeignet gefärbten Präparaten läßt sich ein Caryosom nachweisen. Dieses kann, namentlich bei den Ringen, aus denen später die Geschlechtsformen entstehen, bandförmig oder spiralig ausgezogen sein. Auffallend ist die Lagerung der Gameten auf den roten Blutkörperchen, eine Tatsache, durch welche sich der Parasit von dem Tertianparasiten unterscheidet, dessen Gameten nach Schaudinn in den Blutkörper eindringen sollen. Die Schizogonie verläuft ähnlich wie bei der Tertiana: es kommt zur Bildung von mit der Anzahl der Kernteilungen immer atypischer werdenden Tochterplatten. Das Auftreten eines zweiten, kleineren Kernes in den Merozoiten und den Ringformen wurde beobachtet, über das Schicksal dieses zweiten Kernes wird nichts Näheres berichtet. Die Macrogameten zeichnen sich durch ihr nach Giemsa dunkelblau gefärbtes Plasma und reichliche Pigmentation aus. Eine Art von Vacuole kommt bei ihnen vor, wird aber nicht als Ernährungsvacuole aufgefaßt. Die Microgametocyten besitzen einen auffallend chromatinreichen Kern mit einem bandförmigen Caryosom, ihr Protoplasma ist heller und von alveolärer Struktur. Geißelung wurde in frischen Präparaten sowohl bei diesen Parasiten von Halberstädter und Prowazek, als auch bei *Plasmodium kochi* von Kossel beobachtet. Tüpfelung, ähnlich der Schüffnertüpfelung des Tertianparasiten, kommt vor, Krankheitserscheinungen wurden nicht nachgewiesen, ein 3tägiger Cyclus schien vorhanden zu sein. Anscheinend ausgeheilte Orang-Utans konnten mit parasitenhaltigem Blute mit einer Inkubationszeit von 8 Tagen infiziert werden.

Ein anderer Parasit in *Macacus cynomolgus* und *nemestrinus* (*Plasm. inui*) unterschied sich vom *Plasmodium pitheci* durch sein reichliches gelbes, sehr zartes Pigment, durch die geringere Färbbarkeit seines Plasmas, sowie durch das Fehlen von Tüpfelung.

Ein von Mayer beschriebenes *Plasmodium*, ebenfalls in javanischen Makaken, soll sich von dem vorigen nur durch häufig auftretende Tüpfelung, sowie durch spärlicheres Pigment unterscheiden. Mayer glaubt, daß es sich hierbei um einen anderen Parasiten handelt und benennt denselben *Plasm. cynomolgi.*

Ich will hier vorausschicken, daß beim *Plasm. kochi* in künstlich durch subkutane Einspritzung infizierten Affen manche Veränderungen gegenüber den Parasiten des Affen, welcher die Malaria aus Afrika mitbrachte, konstatiert wurden, dazu gehört in erster Linie das häufigere Auftreten endoglobulären Wachstums, verbunden mit Tüpfelung, welche im primär infizierten Affen nur äußerst selten gefunden wurde, sowie starke Variabilität der Pigmentverhältnisse.

Es läßt sich schwer entscheiden, inwiefern wir es hier mit gesteigerter Anpassung des sehr variablen Parasiten an das Zellschmarotzertum zu tun haben, oder ob Degenerationserscheinungen durch das Ausbleiben der Befruchtung infolge einer „Dysharmonie im Verhältnis zwischen Kern und Plasma“ (Prowazek) hineinspielen. Die Malariaparasiten der Affen scheinen bei veränderten Lebensbedingungen im Körper äußerst variabel zu sein. Auf diese Frage werde ich später, bei Beschreibung der Veränderungen der Parasiten in entmilzten Affen, näher eingehen. Jedenfalls sind dies Verhältnisse, auf die bei der Frage der Identität des *Plasm. inui* und *cynomolgi* Rücksicht genommen werden muß. Offenbar untersuchten Halberstädter und Prowazek hauptsächlich natürlich infizierte Affen, während Mayer seine Beobachtungen in erster Linie an künstlich infizierten Makaken gemacht zu haben scheint. Es ist demnach wohl anzunehmen, wie Mayer selbst es nicht für unmöglich hält, daß *Plasm. inui* und *cynomolgi* identisch sind.

Die Entwicklung des Mayer'schen Parasiten wurde von Flu weiter bearbeitet. Mayer und Flu beobachteten einen zweiten kleineren Kern in freien Merozoiten, ferner beschreiben sie bei größeren Formen die Entstehung eines zweiten, kleineren Kernes durch heteropole Teilung. Infektionsversuche durch Mücken fielen negativ aus, einmal will Flu einen Ookineten im Magen von *Anopheles maculipennis* gesehen haben. Mayer erwähnt kurz kleine Cysten in der Magenwand einer *Anopheles*, welche aber nicht näher untersucht wurden.

Für die Inkubationszeit bei subkutaner Infektion gibt Flu 9—13 Tage an. Ebenso wie Halberstädter und Prowazek erwähnt er, daß Neuinfektionen von Affen, welche bereits eine Malaria überstanden hatten, positiv ausfielen. Die Parasiten waren dann aller-

dings nur spärlich. Flu bemerkt, daß er schon am zweiten Infektionstage Gameten fand.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich über ein Infektionsergebnis berichten, welches vielleicht in dieser Beziehung manches klären wird: Einem südamerikanischen Ouakari, welcher mit dem *Plasm. brasilianum* behaftet war, wurden 2 ccm Blut entnommen und etwas mit Kochsalzlösung verdünnt und einem malariafrei befundenen javanischen Makaken unter die Bauchhaut injiziert. Am 4. Tage bereits nach der Infektion entdeckte ich bei letzterem ziemlich reichliche Parasiten der Art *Plasm. inui.* Auf *Plasm. brasilianum* wurde vergeblich gefahndet.

Es ist wohl als sicher anzunehmen, daß das Rezidiv durch die Einverleibung artfremden Blutes ausgelöst wurde; ob hierbei hämolytische Prozesse eine Rolle spielten, kann nicht entschieden werden. Wie mir Herr Dr. Sieber freundlichst mitteilte, wurden bei Immunisierung afrikanischer Rinder gegen Rinderpest durch Seruminjektion häufig Rezidive von Piroplasmose beobachtet, eine Tatsache, welche sich mit dem vorher beschriebenen Falle wohl in Parallele stellen läßt.

Jedenfalls sind dies Beobachtungen, welche bei der Frage der Immunität gegen Affenmalaria zur Vorsicht nahmen.

Daß Flu schon am zweiten Infektionstage Gameten im Blute sah, spricht auch wohl dafür, daß es sich um ein Rezidiv handelte, welches durch parthenogenetische Vermehrung der in Milz und Knochenmark zurückgehaltenen Macrogametocyten hervorgerufen wurde. Ich konnte solche noch lange Zeit, nachdem die Parasiten aus dem peripheren Blute verschwunden waren, bei Abwesenheit aller anderen Formen in der Milz nachweisen und durch Injektion von Milzextrakt, welche bei zwei Affen vorgenommen wurde, diese in beiden Fällen infizieren. In Figur 25 der vorläufigen Mitteilung von Gonder und mir ist eine solche Form aus der Milz abgebildet.

Material und Untersuchungsmethoden.

Im Sommer 1908 wurde vom Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten zu Hamburg aus eine größere Anzahl neu angekommener Affen des Hagenbeck'schen Tierparkes in Stellingen auf Blutparasiten untersucht. Es handelte sich um einen Gorilla, 3 Orang-Utans, 6 Schimpansen, 8 Mangabes, 2 grüne Meerkatzen, einen Ouakari,

einige Mandrills, Drills, südamerikanische Klammeraffen und Mönchsaffen.

Die Untersuchung der Anthropomorphen verlief in bezug auf Protozoen negativ, bei einem jungen Schimpansen wurde *Filaria perstans* gefunden (vgl. RODENWALDT: *Filaria perstans* beim Schimpansen. Briefkasten d. Inst. f. Schiffs- u. Tropenkrankh. im Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1908 Nr. 6).

In dem Ouakari fand sich ein neues, dem menschlichen Quartanparasiten sehr ähnliches Plasmodium (*Plasm. brasilianum* GONDER und v. GOSSLER), sowie ein Trypanosom (*Tryp. Prowazeki* v. GOSSLER). Die Mangabes beherbergten in drei Fällen, die Meerkatzen in zwei Fällen das *Plasm. Kochi* (LAV.). Die Beschreibung des Trypanosoms, sowie die schizogonische Entwicklung der beiden Malariaparasiten veröffentlichten GONDER und ich in kurzer Form in einer vorläufigen Mitteilung.

Dem Affen wurde, solange sich Parasiten im peripheren Blute fanden, täglich zweimal eine Blutprobe entnommen. Dieselbe wurde lebend in mit Wachs oder Vaseline umrandeten Präparaten auf dem kalten oder erwärmten Objekttisch (Kupferplatte nach EHRLICH) untersucht. Zur Vitalfärbung wurde Neutralrot benutzt. Als Lichtquelle diente Tageslicht oder Auerlicht mit Schusterkugel.

Dauerpräparate wurden meist durch die gewöhnliche Alkoholfixierung gewonnen, die feuchte Fixation in Sublimat-Eisessig-Alkohol, FLEMMING'scher oder HERMANN'scher Lösung wurde angewandt, ergab aber keine so guten Resultate, da sich die Erythrocyten in vielen Fällen dabei auf die Kante stellten, obendrein sehr oft ihre Form veränderten. Als hinderlich erwies sich außerdem die starke Färbbarkeit der auf diese Weise fixierten Blutkörperchen mit Kernfarbstoffen.

Zur Färbung wurde meistens die ältere Methode von GIEMSA verwandt. Als vorteilhaft erwies sich, namentlich zur Darstellung der Caryosome, Überfärbung und darauf folgende kurze Differenzierung in absolutem Alkohol, unter Umständen beides wiederholt. Die neuere GIEMSA-Lösung wurde gelegentlich ebenfalls benutzt. Die feucht fixierten Präparate wurden mit Eisenhämatoxylin oder mit Hämatoxylin nach DELAFIELD gefärbt.

Experimentelle Ergebnisse.

Bevor ich mit der genaueren Beschreibung der Affenplasmodien beginne, will ich an dieser Stelle einige experimentelle Ergebnisse mitteilen.

Eine direkte Übertragung des *Plasm. brasilianum* auf javanische Makaken (*M. cynomolgus*), welche wir zweimal versuchten, gelang nicht. Es wurden mehrere Kubikzentimeter Blut entnommen, mit etwas steriler physiologischer Kochsalzlösung vermischt und den Versuchstieren unter die Bauchhaut injiziert. Wie ich vorher erwähnte, wurde bei einem Makaken nur ein leichtes Rezidiv von javanischer Affenmalaria ausgelöst, *Plasm. brasilianum* konnte in keinem Falle gefunden werden.

Günstiger fielen die Übertragungsversuche mit *Plasm. Kochi* aus. Eine direkte Infektion gelang in allen drei Fällen, allerdings wurden nur Affen derselben Art (*Cercocebus fuliginosus*) benutzt. Die Inkubation dauerte 9—12 Tage. Ein fester Typus konnte nie festgestellt werden.

Einer Mangabe wurde parasitenhaltiges Blut subkutan appliziert, einer anderen wurde ein Teil der in Kochsalzlösung verrührten, frisch exstirpierten Milz einer scheinbar ausgeheilten Mangabe subkutan eingespritzt. Einer dritten wurde Milzextrakt von einer noch spärliche Parasiten im peripheren Blute aufweisenden Mangabe injiziert. Nebenbei bemerkt, waren in der Milz des scheinbar ausgeheilten Affen nur ganz spärliche Macrogametocyten zu finden, es muß also eine Parthenogenese, wie sie Schaudinn bei den Tertianarezidiven beschreibt, im Blute des injizierten Versuchstieres angenommen werden.

Während der Parasitengehalt des mit Blut infizierten Affen ein geringer blieb, trat bei den beiden anderen eine enorme Infektion auf.

Von klinischen Erscheinungen konnte nur ein kurze Zeit bestehendes, unregelmäßiges Fieber festgestellt werden. Die Tiere schienen sich im übrigen wohl zu befinden. Die Parasiten im peripheren Blute nahmen während der nächsten 4 Wochen stetig an Zahl ab, um schließlich ganz zu verschwinden.

Übertragung auf Menschen durch subkutane Einspritzung stark parasitenhaltigen Affenblutes wurde zweimal versucht, führte aber zu keinen positiven Resultaten.

An dieser Stelle sei über eine Beobachtung berichtet, welche inbetreff der Rolle, die die Milz bei Malaria spielt, von Interesse

sein dürfte: Einem Affen, welcher sehr stark infiziert war, bei welchem aber dann die Parasiten stark an Zahl abgenommen hatten, so daß sich nur ganz wenige Gameten und noch weniger Schizonten im Blute nachweisen ließen, wurde zu Versuchszwecken die Milz exstirpiert. Es handelte sich um anderweitige Experimente, welche Herr Dr. Gonder und Dr. Rodenwaldt anstellten. Mir wurde das parasitologische Material freundlichst zur Verfügung gestellt. Das Tier überstand den Eingriff sehr gut, war die darauf folgende Zeit munter und fraß gut. Die Wunde heilte per primam intentionem. Drei Tage nach der Operation beobachtete ich, daß das Blut mit Parasiten förmlich überschwemmt war. Ich konnte bis zu 40 Parasiten in einem Gesichtsfelde (Zeiss, Imm. 2 mm, Comp.-Oc. 4) zählen. Dabei hatte das Tier kein Fieber und zeigte keine Krankheitserscheinungen.

Wie mir Herr Dr. Gonder mitteilt, ist die Infektion 3 Monate nach der Entmilzung noch immer auf gleicher Höhe. Bei zwei weiterhin entmilzten Meerkatzen, welche mit *Plasm. Kochi* behaftet waren, stellten Gonder und Rodenwaldt dieselbe Tatsache fest. Die Parasiten verschwanden nicht mehr aus dem peripheren Blute.

Ob diese rasche Vermehrung auf Rechnung einer allgemeinen Schwächung des Körpers durch die Operation zu setzen ist, oder ob sie durch den Ausfall einer Parasiten zurückhaltenden Fähigkeit der Milz, wie sie Mannaberg und Bignami (zitiert bei Mannaberg) erwähnen, bedingt war, läßt sich noch nicht mit Sicherheit entscheiden. Allerdings scheint die letztere Deutung mehr Wahrscheinlichkeit für sich zu haben. Diese Frage wird im Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten zu Hamburg weiter untersucht und die Ergebnisse später an anderer Stelle mitgeteilt werden.

In der darauf folgenden Zeit trat eine ziemlich starke Leucocytose auf.

Die anatomische Untersuchung der Milzen ergab eine Vergrößerung bis fast aufs doppelte Volumen einer normalen Affenmilz und ziemlich feste Konsistenz. Die Follikelzeichnung war nicht mehr erkennbar. Mikroskopisch fand sich sowohl freiliegendes, als auch von Leucocyten aufgenommenes Pigment, ferner in jedem Falle Parasiten, und zwar fast nur Macrogametocyten.

Phagocytose lebender Plasmodien, wie sie z. B. Ruge bei *Tertiana* beschreibt, konnte nicht mit Sicherheit festgestellt werden. Ich konnte in einem Falle auf dem geheizten Objekttisch beobachten, wie sich ein Leucocyt an einen, allerdings endoglobulären Parasiten anlegte

sich dann aber schnell zurückzog und aus dem Gesichtsfelde verschwand. Damit ist natürlich gegen die Annahme einer Phagocytose nichts gesagt, zumal nach Ziemann Aufnahme endoglobulärer Formen nur dann eintritt, wenn die Erythrocyten anfangen zu degenerieren. Auch in Präparaten aus frisch exstirpierten Milzen habe ich mit Bestimmtheit keine Phagocytose lebender Parasiten beobachten können. Es ist höchstwahrscheinlich, daß die Plasmodien in der Milz eine Schädigung erfahren, welche sie für die Phagocytose gleichsam vorbereiten. Ziemann wendet dagegen den häufigen Befund von Macrogametocyten im Milzpunktat ein. Derselbe könnte aber ebensogut für eine größere Resistenzfähigkeit dieser in der Milz zurückgehaltenen Formen gegen die betreffenden schädigenden Einflüsse sprechen. Nebenbei bemerkt, sind aus den Beobachtungen unter dem Mikroskop, in die doch recht anomale Verhältnisse hineinspielen, nur mit großer Vorsicht Rückschlüsse auf die Vorgänge im Körper zu ziehen.

Bei dem splenektomierten Affen konnte ich, ebenso wie bei anderen Mangabes, welchen Milzextrakt von einem bereits sekundär infizierten Versuchstiere eingespritzt war, bei sehr reichlicher Infektion, eine Beobachtung machen, welche für die Biologie der Plasmodien von Interesse sein dürfte: Die Parasiten erlitten nämlich Veränderungen, welche so groß waren, daß man sie auf den ersten Blick als einer ganz anderen Art angehörig hätte ansehen können. Dazu gehört in erster Linie das zahlreiche Auftreten direkter Zweiteilungen. Bei der Durchsicht gefärbter Präparate fiel mir auf, daß häufig zwei oder mehrere oft pigmentierte Parasiten auf oder in einem Blutkörperchen saßen. Nun konnte ich auf dem erwärmten Objekttisch beobachten, daß diese Doppelinfektionen in den meisten Fällen durch frühzeitige Teilungen der jungen Parasiten entstanden waren. Ich konnte im Leben verfolgen, wie sich der Kern zerschnürte, wie sich in der Richtung der Längsachse eine Furche anlegte, und wie dann die beiden Plasmaportionen auseinander rückten. In vielen Fällen waren die Teilstücke verschieden groß (vgl. Fig. 30 u. 31).

Es resultierten hieraus Bilder, welche sehr an die Blutbefunde bei Piroplasmose erinnern, wie sie z. B. Gonder in seiner Arbeit über *Achromaticus vesperuginis* abbildet. Es traten alle Übergänge bis zur einfachen Abschnürung kernloser Plasmapartien auf.

Andererseits war das regellose morphologische Verhalten des Chromatins auffallend, dessen Maße im Verhältnis zum Plasma häufiger zu groß als zu klein war. Namentlich in ersterem Falle sah man oft reichliche Chromidienbildung.

Diese Vorgänge wären durch die Kernplasmatheorie Hertwig's zu erklären. Die Abstoßung kernloser Plasmateile könnte man, ebenso wie Halberstädter und Prowazek dies beim *Plasm. inui* tun, als Regulationsvorgang zur Herstellung des richtigen Verhältnisses zwischen Kern- und Plasmamasse auffassen. Ebenfalls als ein solcher Vorgang läßt sich die Chromidienbildung erklären.

Was die starke Vermehrung betrifft, so ist ein Hand in Hand gehen von übermäßiger Vermehrung und Degeneration auch sonst schon im Protistenreiche bekannt. Ich erinnere nur an die Untersuchungen Moroff's über *Adelea zonula*, ferner an die starke Vermehrung der Milzbrandbacterien, verbunden mit Virulenzverminderung, auf glyzerinhaltigen Nährböden.

Auch bei den Metazoen, so z. B. in der Lehre von den Geschwülsten, begegnen wir ähnlichen Vorgängen (vgl. die Arbeit R. Hertwig's über die physiol. Degeneration bei *Actinosphaerium*).

Den Überträger des *Plasmodium Kochi* zu finden ist nicht gelungen. Jedenfalls ist *Anopheles maculipennis* nicht als solcher anzusprechen. Die Mücken, welche gesogen hatten, wurden gleich nach dem Saugen, nach 10 Minuten, $^1/_2$ Stunde, 1, 2, 6, 24, 48 Stunden präpariert, der Darminhalt sowohl frisch, als in trocken oder feucht fixierten, gefärbten Präparaten untersucht. Die Schizonten gingen sehr langsam zugrunde. Ich konnte noch nach 24 Stunden im gefärbten Trockenpräparat unverändert aussehende Formen nachweisen.

In einem Falle kam es zu Microgametenbildung, welche weiter unten beschrieben werden wird. Reduktionserscheinungen an den Macrogametocyten, sowie Befruchtung, konnte ich dagegen im Mückenmagen nicht nachweisen.

In folgendem werde ich die schizogonische Entwicklung des *Plasm. Kochi* und *Plasm. brasilianum* beschreiben.

Ich werde zunächst auf ersteres eingehen. Am geeignetsten zur Untersuchung erwiesen sich die in den Tropen natürlich infizierten Affen, da man bei den sekundär infizierten schon sehr bald durch Degeneration zu erklärende Veränderungen sah, welche das normale Bild verwischten.

Auf die systematische Stellung dieser Plasmodien, ferner auf die Frage der Zweikernigkeit, sowie auf die Erklärung der feineren Kernverhältnisse bei der Teilung soll in einem besonderen Kapitel eingegangen werden.

Die Entwicklung von *Plasmodium Kochi* (Lav.) im Blute von *Cercocebus fuliginosus*.

Die verschiedenen Entwicklungsformen dieses Parasiten waren in den meisten Fällen den Erythrocyten angeheftet. Tüpfelung, sowie Vergrößerung und Abblassung der roten Blutkörperchen, Erscheinungen, welche auf endoglobuläres Wachstum hinweisen, fanden sich in den in den Tropen natürlich infizierten Affen verhältnismäßig nur selten.

Anders verhielt sich dies bei den sekundär infizierten Affen, wie ich schon vorher andeutete, besonders kurze Zeit, bevor die Degenerationsformen auftraten, und vor allem einige Wochen später, nachdem dieselben schon einige Zeit vorhanden waren. Da waren die deutlich endoglobulären Formen bei weitem in der Überzahl.

Die Tüpfelung gehörte zu dem Typus, welchen Maurer für die menschliche *Tropica* aufstellte. Sie trat am deutlichsten hervor, wenn man, wie bekannt ist, die Giemsa-Lösung durch einige Tropfen Ammoniak alkalisch gemacht hatte. Es handelte sich um Fleckchen, kleine Ringe, Schleifen usw., welche nicht gleichzeitig, sondern nacheinander auftraten, wie es Maurer bei der *Tropica* im Gegensatz zur *Tertiana* hervorhebt. Die Ringe und Schleifen ließen sich oft in eine große Zahl von Pünktchen auflösen, welche durch ihre Kleinheit und ihr nahes Zusammenstehen ununterbrochene Linien vortäuschten.

Die Maurer'sche Deutung der Tropicalflecken läßt sich jedoch mit unseren Befunden nicht in Einklang bringen. Maurer hält die Flecken für Substanzveränderungen resp. Verluste auf der Oberfläche des Erythrocyten, die eine Folge sind von Angriffen des Parasiten, welche dieser unternimmt, um sich an seinem Träger festzuhalten und sich Nahrung zu verschaffen. Er glaubt, daß der Tropicaparasit, solange er noch jung ist, seine Nahrung mit Hilfe der Vacuole dem Blutplasma entzieht, sich dann an das Blutkörperchen selber hält und schließlich in dasselbe einsinkt.

Nun findet man aber beim *Plasm. Kochi* schon kleine, deutlich endoglobuläre Formen, bei denen, besonders bei Doppelinfektionen eines Blutkörperchens, die Tropicafleckung deutlich ausgesprochen ist, bei denen also wohl derartige Substanzverluste der Oberfläche durch direkte Angriffe des Parasiten als ausgeschlossen zu erachten sind. Nebenbei bemerkt, ist die amöboide Beweglichkeit der jungen, auf dem Blutkörper liegenden Parasiten viel zu groß, als daß man

sich das Zustandekommen einer derartigen, doch wohl nur durch längere lokale Einwirkung verursachten mechanischen oder chemischen Schädigung, wie sie Maurer annimmt, vorstellen könnte. Ich verweise hierzu auf Fig. 2—4, welche verschiedene Phasen amöboider Beweglichkeit darstellen, wie sie ein, längere Zeit auf dem geheizten Objekttisch beobachteter, Parasit während 10 Minuten durchmachte.

Häufig fanden sich frei im Blutplasma liegende Parasiten, welche offenbar beim Ausstreichen von ihren Blutkörperchen abgezogen waren, wie es auch Halberstädter und Prowazek beim *Plasm. pitheci* beschreiben. Besonders oft sah ich dies bei ausgewachsenen Schizonten, welche direkt vor der Zerfallsteilung standen, eine Beobachtung, welche man wohl durch die Lockerung der Beziehungen zwischen dem angehefteten Parasiten und der Wirtszelle erklären kann, wodurch sich die definitive Loslösung der jungen Merozoiten vorbereitet.

Die Angabe Halberstädter's und Prowazek's, wonach bei *Plasm. pitheci* besonders die Gameten die Lage auf den Erythrocyten bevorzugen, trifft für *Plasm. Kochi* nicht zu. Besonders in den sekundär infizierten Affen, und zwar zu einer Zeit, wo sich die Degenerationsanzeichen noch nicht bemerkbar machten, und einige Wochen nachdem sie zuerst aufgetreten waren, traf man alle Formen gelegentlich endoglobulär an.

Zunächst ist von Interesse, daß man zwei verschiedene Formen von Merozoiten unterscheiden kann. Die eine Form ist dadurch charakterisiert, daß sie einen Kern besitzt, in welchem sich bei geeigneter Differenzierung deutlich ein kleines, rundliches, blaurot gefärbtes Korn erkennen läßt. Neben dem Hauptkern befindet sich in den meisten Fällen ein kleinerer zweiter Kern, welcher direkt vor dem Freiwerden der Merozoiten oder etwas später, durch heteropole Mitose aus dem Hauptkern entsteht (vgl. in Fig. 20 den auf der unteren Hälfte des Blutkörperchens liegenden jungen Parasiten). Diese Merozoiten sind als junge Schizonten anzusprechen.

Die andere Form zeichnet sich durch ein eigentümlich geformtes Kernkörperchen aus. Dasselbe ist hufeisenförmig gekrümmt, die beiden Schenkel sind im Verhältnis zum Mittelstück verdickt. Meistens liegen die beiden Schenkel aneinander. Infolgedessen erscheinen sie, wenn man in der Richtung der Schenkelachse auf die freien Enden derselben heraufblickt, als zwei nebeneinanderliegende Körner, während bei der Besichtigung von der Seite ein Schenkel den anderen verdecken kann. Daß die beiden Schenkel miteinander in Verbindung stehen, erkennt man einerseits an geeignet orientierten Kernen, andererseits kann man die Bildung sowohl an gefärbten

Präparaten in allen Stadien erkennen (vgl. Fig. 18 u. 19), als auch lebend beobachten.

Die Gestalt des Caryosoms kommt so zustande, daß sich ein Kernkörperchen in die Länge streckt und dann taschenmesserartig zusammenklappt. Es ist in der Regel von einer dünnen Hülle von hellerer Kernsubstanz umgeben, zeichnet sich vor dieser durch seine bei Giemsa-Färbung violette Farbe aus.

Bei diesen Merozoiten scheint es sich um omnipotente Formen, aus welchen männliche und weibliche Gameten, sowie indifferente Schizonten entstehen können, zu handeln.

Wir wollen zunächst die weitere Entwicklung der zuerst beschriebenen Formen verfolgen.

Die freien Merozoiten (vgl. Fig. 1) heben sich im Leben als ziemlich stark lichtbrechende Gebilde deutlich ab. Der Kern ist im Leben schwer zu erkennen, jedoch sieht man ihn gelegentlich als stärker lichtbrechendes Pünktchen, welches von einem dunkleren Hofe umgeben ist. Die Art der Bewegung gleicht der von Schaudinn bei Tertianamerozoiten beschriebenen. Die freien Formen nehmen dann von einem Erythrocyten Besitz, und zwar scheinen sie sich, wenigstens bei primär infizierten Affen, demselben nur anzuheften.

Der junge, zunächst birnförmige Parasit bildet eine Vacuole, welche sich allmählich durch Flüssigkeitsaufnahme mehr und mehr vergrößert, so daß schließlich an einer Seite meist verdickte Ringformen daraus resultieren, welche, wie schon Kossel erwähnt, stark an junge Tertianaringe erinnern.

Der zweite Kern ist während dieses Stadiums meistens nachzuweisen, er liegt dann am Rande der Vacuole. Seine Lage gegenüber dem Hauptkern scheint er, wie aus gefärbten Präparaten hervorgeht, öfters zu verändern. Jedenfalls rückt er gelegentlich auch bei den kleineren Formen in diesen hinein. Bei den kleinsten auf resp. in den Blutkörperchen befindlichen Schizonten scheint er stets auf einige Zeit im Hauptkern zu verschwinden.

Es gelang, bei Überfärbung der Präparate nach der alten Giemsa-Methode und darauf folgender Differenzierung in absolutem Alkohol die feineren Vorgänge bei der Bildung des zweiten Kernes aufzudecken (Fig. 12 u. 13). Diese Vorgänge, welche im Leben kaum verfolgbar sind, finden jedoch durch den Befund in vielen gefärbten Präparaten eine Erklärung. Ich schildere der besseren Anschaulichkeit halber diese Vorgänge, wie man sie sich im lebenden Parasiten denken muß.

Der Hauptkern zeigt ein feines Liningerüst, in welches das Chromatin in fein verteilter Form eingebettet ist. Hiervon hebt sich deutlich ein nach Giemsa violett gefärbtes kleines Korn von rundlicher Gestalt ab. Dieses Korn bildet an einer Seite einen kleinen Buckel, welcher sich vergrößert und sich schließlich in Gestalt eines kleineren Kornes abschnürt. Es handelt sich hier also um eine Art von Kernknospung. Dieses zweite Korn treibt alsdann einen kleineren Teil des äußeren Chromatins allmählich aus dem Hauptkern heraus, bis sich derselbe abschnürt und an der Vacuole entlang rückt, wobei das durch die Knospung entstandene kleine plastinreiche Gebilde in ihm verbleibt. Dasselbe nimmt dann in den meisten Fällen bald an Größe zu. An geeigneten Präparaten kann man einen feinen Achromatinfaden erkennen, welcher das dunkelgefärbte Korn im Hauptkerne mit dem Nebenkern verbindet (vgl. Fig. 13). Die Größe des zweiten Kernes scheint erheblich zu schwanken, ebenso wie seine Plastinkomponente. Auf die Bedeutung dieser Vorgänge werde ich in einem späteren Kapitel näher eingehen.

Bevor der Hauptkern zur ersten Vermehrungsteilung schreitet, scheint der zweite Kern fast immer in ihn hineinzurücken. Dieses Hineinrücken, welches auch Hartmann gelegentlich erwähnt, konnte ich am lebenden Objekt verfolgen (vgl. Fig. 5 u. 6). Man konnte beobachten, wie der in diesem Falle verhältnismäßig große Nebenkern sich allmählich dem Hauptkern näherte, während infolge von Plasmaströmungen sich die Dicke des Plasmaringes an seinen verschiedenen Teilen veränderte. Einige Zeit, nachdem sich die Kerne aneinander gelegt hatten, war eine Grenze zwischen ihnen nicht mehr zu erkennen, der Kern hatte zunächst eine birnförmige Gestalt, die sich dann abrundete.

Die jungen Schizonten zeigen frühzeitig starke amöboide Beweglichkeit. Fig. 2—4 zeigen die Formveränderungen, welche ich bei einem Schizonten innerhalb einer Zeit von 10 Minuten im Leben beobachten konnte. Allerdings handelte es sich in diesem Falle wohl um eine der im vorigen Kapitel beschriebenen degenerierenden, pigmentlosen Formen, bei der eine Vacuole nicht nachzuweisen war.

Das Pigment ähnelt in vielen Beziehungen demjenigen der menschlichen Tertianaparasiten, jedoch ist es etwas gröber, öfters mehr brockenartig. Im Leben ist es stark lichtbrechend und von bräunlich-gelber und grünlicher Farbe, zeigt lebhafte zitternde Bewegung. Von dem Tertianapigment unterscheidet es sich dadurch, daß es im polarisierten Lichte nicht doppelbrechend ist. Es wird nicht immer gebildet, gelegentlich scheint es aufgelöst werden zu

können. Man sieht zuweilen, daß eine Partie eines in Teilung befindlichen Schizonten bräunlich gefärbt ist (vgl. hierzu Fig. 15 der vorläufigen Mitteilung). Es ist wohl als sicher anzunehmen, daß diese Verfärbung durch sich lösende Pigmentkörnchen verursacht wird.

Bei Vitalfärbung mit Neutralrot treten, besonders in der Umgebung des Pigments, zahlreiche rötlich-braune Granula auf, zwischen welchen man die Pigmentkörner nicht mehr erkennen kann. Wenn der Parasit abstirbt, nimmt der Kern in geringem Maße den Farbstoff an.

Die Pigmentkörner, welche innerhalb der Maschen des protoplasmatischen Wabenwerks liegen, befinden sich im lebenden Parasiten in zitternder Bewegung. Im Augenblick des Absterbens des Parasiten hört diese Bewegung auf, wie es auch Ruge gelegentlich seiner Beobachtung einer Phagocytose beschreibt.

Das Pigment der Gameten unterscheidet sich von demjenigen der Schizonten durch seine noch lebhaftere, wackelnde Bewegung, wie sie Schaudinn auch bei der menschlichen Tertiana erwähnt.

Wenn man einen Parasiten zerdrückt, so werden die herausgetretenen Pigmentkörner heftig umhergeschleudert. Es dauert längere Zeit, bis sie zur Ruhe kommen, eine Erscheinung, welche sich aus einer starken Veränderung der Oberflächenspannung erklären läßt.

Nach Schaudinn treten die Pigmentkörnchen zuerst an der Grenze zwischen Kern und Plasma auf und sind daher als Kernprodukte anzusprechen. Beim *Plasm. Kochi* wird man sie kaum als absolute Exkrete ansehen dürfen, da sie, wie oben erwähnt, gelegentlich aufgelöst werden können.

Wenn wir uns Moroff's Ansicht anschließen, nach welcher die Nahrungsstoffe innerhalb des Kernes zu Chromatin verarbeitet werden, dann ins Plasma überwandern, wo sie zur Bildung von Reservestoffen usw. verbraucht werden, so ist auch das Pigment als ein Umwandlungsprodukt des Chromatins anzusehen, welches aber nur unter gewissen Bedingungen noch zu irgend einer Funktion berufen ist. Es würde vielleicht unter den Begriff der apoplastischen Chromidien Prowazek's einzuordnen sein.

Jedenfalls spielt das Pigment beim *Plasm. Kochi* nicht immer dieselbe Rolle, wie bei den menschlichen Malariaparasiten, ein Unterschied, welcher möglicherweise im Fehlen der Doppelbrechung seinen optischen Ausdruck findet.

Die Vermehrungsteilung des Schizontenkernes beginnt verhältnismäßig früh. Während dieselbe fortschreitet, nimmt die amöboide

Beweglichkeit des Parasiten allmählich mehr und mehr ab. Das Pigment wird zusammengeschoben und bleibt mit dem umgebenden Plasmateil und vorher ausgestoßenen Chromatinmassen als Restkörper zurück. Bei der Untersuchung der lebenden Formen trifft man denselben später meistens in der Mitte des Schizonten an, so daß oft margaritenförmige Figuren, wie sie GOLGI bei der menschlichen Malaria abbildet, dadurch zustande kommen. Dagegen findet man derartige Figuren in gefärbten Ausstrichpräparaten nur selten vor, eine Tatsache, welche wohl auf Rechnung mechanischer Einflüsse beim Ausstreichen des Blutes zu setzen ist. Die Anzahl der jungen Merozoiten schwankt im allgemeinen zwischen 8 und 16.

Bevor ich die Kernteilung beschreibe, will ich vorausschicken, daß, bevor es dazu kommt, das Caryosom sich noch mehr verkleinert, und von ihm schließlich nur ein kleines, aber stets sich sehr deutlich abhebendes Korn nachbleibt.

Die Kernteilung, welche ich nach denselben Gesichtspunkten schildere, wie die Bildung des zweiten Kernes, vollzieht sich folgendermaßen:

Das Caryosom wird hantelförmig, schnürt sich durch (Fig. 14) und zerstemmt den Kern allmählich, in ähnlicher Weise wie es PROWAZEK bei Trypanosomen beschreibt. An den Kernpolen bilden sich dabei mehr oder weniger deutliche Polkappen. In vielen Fällen kann man beobachten, daß sich das Chromatin zu längs verlaufenden Streifen anordnet (Fig. 15). Diese erste Kernteilung scheint die längste Zeit in Anspruch zu nehmen, denn man findet Stadien derselben außerordentlich häufig.

Nachdem sich der Kern in zwei Teile geteilt hat, rücken diese auseinander, während die Nahrungsvacuole verschwindet. Die folgenden Teilungen verlaufen ungefähr in gleicher Weise, wie die erste. Dabei verwischen sich die Kerngrenzen. Am lebenden Präparat kann man beobachten, wie lichtbrechende Substanzen aus dem Kern heraustreten und teilweise im Plasma liegen bleiben, teilweise sich unter Veränderung ihrer Gestalt allmählich verkleinern, wohl der morphologische Ausdruck ihrer wenigstens zum Teil erfolgenden Auflösung.

Das im Kern liegende, nach GIEMSA dunkler gefärbte Korn erfährt ebenfalls Veränderungen. Man trifft es im gefärbten Präparate in verschiedenen Größen und Formen an, was wohl auf Reduktionen und cyclische Vorgänge schließen läßt. Oft sieht man daneben ein bis mehrere ganz kleine, plastinreiche Körnchen liegen,

welche man auch frei im Plasma findet. Offenbar handelt es sich hierbei ebenfalls um Abspaltungen von Chromatinmasse.

In einem späteren Kapitel werde ich versuchen, eine Deutung dieser Verhältnisse zu geben.

Ein Teil des dunkler gefärbten Kornes bleibt ebenfalls erhalten und geht in die jungen Merozoiten über. Oft treffen wir es in kappenförmiger Gestalt im peripheren Teile des Kernes an (Fig. 10).

Bei den Schizogonien, welche die Geschlechtsformen liefern, fällt der Caryosomanteil der Merozoitenkerne erheblich größer aus. In betreff der feineren Vorgänge verweise ich auf den Anfang dieses Kapitels.

Die Entwicklung derjenigen kleinsten Formen, welche den Kern mit dem vorher näher beschriebenen, hufeisenförmig gekrümmten Caryosom besitzen, differiert erheblich von derjenigen der Schizonten.

Hauptsächlich sind es zwei Entwicklungslinien, welche wir aus der Vergleichung der gefärbten Präparate erkennen können.

Beim weiteren Wachstum tritt in den meisten Fällen ebenfalls bald eine Vacuole auf, so daß das Bild eines ungleichmäßigen Ringes entsteht. Der Kern liegt bald in der schmäleren, bald in der breiteren Partie desselben. Die amöboide Beweglichkeit steht hinter derjenigen der jungen Schizonten zurück. Fig. 7 u. 8 zeigen einen solchen Parasiten im Leben. Die Beobachtungszeit, während welcher sich die Körperform so änderte, wie es aus den Figuren ersichtlich ist, entspricht etwa demselben Zeitraum, in dem bei einem Schizonten die Formveränderungen zustande kamen, welche ich auf Fig. 2—4 abbildete. Im Kern erkennt man die beiden verdickten Hufeisenschenkel als längliche, stärker lichtbrechende Flecke. Gelegentlich können diese auseinanderrücken (Fig. 21). Auch diese Formen scheinen in seltenen Fällen einen kleinen zweiten Kern bilden zu können (Fig. 23). In Geschlechtstieren, welche Ringform aufweisen, liegt der Kern häufig innerhalb des Ringes, ähnlich, wie es Ruge bei der menschlichen Malaria beschreibt.

Die Gameten wachsen ebenso schnell wie die Schizonten, eine Tatsache, welche auch Lühe erwähnt und durch geeignetere Wachstumsbedingungen durch das Auftreten einer Vacuole erklärt. Dieser Grund dürfte kaum zutreffen, da wir dieselben Verhältnisse beim *Plasm. brasilianum* vorfinden, bei dessen Geschlechtsformen es nie zur Ausbildung einer Vacuole kommt.

Bei einem Teile dieser Formen büßt das Caryosom bald an Größe ein, während das Plasma reservestoffreicher und gröber granuliert, kompakter erscheint. Es nimmt bei der Färbung nach Giemsa

einen dunkleren Farbenton an. Häufig sieht man in ihm kleine, wahrscheinlich in Auflösung begriffene Chromatinteilchen, Pigment wird in reicherem Maße aufgespeichert. Die Körnchen sind im allgemeinen größer, zeigen im Leben eine ähnlich wackelnde Bewegung, wie bei Tertiana.

Wenn diese Formen ausgewachsen sind, besitzen sie einen, im Verhältnis zum Plasma, kleinen Kern, in dessen Lininmaschen das Chromatin in fein verteilter Form eingebettet ist. Davon hebt sich deutlich ein meist rundliches, dunkler gefärbtes Caryosom ab. Die erheblich verkleinerte Vacuole, welche stets neben dem Kern liegt, wird im Gegensatz zur menschlichen Tertiana auch bei den größeren Formen gewöhnlich angetroffen, verschwindet aber meistens einige Zeit, nachdem sie ihr Wachstum vollendeten. Grobes Pigment wird reichlich angetroffen, das Plasma färbt sich nach Giemsa dunkelblau (Fig. 24 u. 25). Diese Formen erweisen sich als Macrogametocyten.

Bei der Entwicklung der Microgametocyten wächst der Kern ungefähr in demselben Maße wie das Plasma. Die Form des Caryosoms wird verwischter, ebenso die Kerngrenzen, während das Plasma sich hell färbt und weniger kompakt ist. Die Pigmentbildung ist geringer als bei den Macrogametocyten. Schließlich haben wir ausgewachsene Formen vor uns, deren Plasma die soeben geschilderten Verhältnisse zeigt, während der Kern sehr voluminös, undeutlich begrenzt ist und ein großes Caryosom besitzt (Fig. 26 u. 27). Gelegentlich kommt es zur Bildung von Chromidien.

Endlich scheint mir noch eine dritte Entwicklungsmöglichkeit vorzuliegen, nämlich eine Rückbildung der noch undifferenzierten, chromatinreichen, jüngsten Formen zum Schizonten. Wie Fig. 22 zeigt, kommt es gelegentlich zur Abstoßung einer Kernhälfte, welche dann bald bei Giemsa-Färbung eine blassere Farbe zeigt und wohl sicher im Plasma zugrunde geht.

Daß daneben eine echte Parthenogenese ausgewachsener weiblicher Parasiten vorkommt, machen die Ergebnisse der Infektionsversuche mit Milzextrakt von Affen, welche in der Milz nur Macrogametocyten aufwiesen, wie ich sie im vorigen Kapitel mitteilte, sehr wahrscheinlich. Allerdings habe ich in keinem Falle Bilder, wie sie Schaudinn bei den Tertianarecidiven schildert, finden können. Dagegen begegnete ich häufiger Formen, wie ich sie in Fig. 28 abbildete, welche man vielleicht als autogamieartige Prozesse, vergleichbar denjenigen bei der Parthenogenese der Macrogametocyten von *Haemoproteus*, deuten könnte. Jedoch dürfte es zu gewagt sein,

einen derartig komplizierten Vorgang aus verhältnismäßig wenigen, unzusammenhängenden Bildern kombinieren zu wollen.

Mehrere von den komplizierten Differenzierungsverhältnissen bei *Plasm. Kochi* konnten wir uns erst erklären, nachdem wir die Entwicklung des *Plasm. brasilianum* hatten verfolgen können, da bei diesem die Bilder zum Teil klarer und einfacher zu deuten sind.

In einigen Fällen gelang es, Microgametenbildung, Reduktionserscheinungen an den Macrogametocyten und sogar mehrmals Befruchtung nachzuweisen, und zwar im erkalteten Affenblut.

Ich bediente mich dabei einer Methode, welche im Institute für Schiffs- und Tropenkrankheiten schon vorher gelegentlich angewandt wurde. Es wurde mit heißem Wasser getränktes Filtrierpapier in mehrere Petrischalen gelegt, so daß sich bei der Abkühlung Kondenswasser an den Wänden niederschlug. Das frisch entnommene Blut wurde auf dem Objektträger ausgestrichen, angehaucht und sofort in diese feuchten Kammern gebracht. Dann wurde ein Blutstropfen unter dem Deckglas lebend beobachtet. Je nach dem Stadium der Microgametenbildung, soweit man dasselbe lebend beobachten konnte, wurden die Objektträger aus den feuchten Kammern herausgenommen, an der Luft getrocknet, in absolutem Alkohol oder feucht fixiert und nach Giemsa oder mit Eisenhämatoxylin gefärbt.

Wie mir Herr Dr. Gonder mitteilt, ist es ihm inzwischen häufig gelungen, nach Versetzung des frisch entnommenen Blutes mit Kochsalzlösung Microgametenbildung und Befruchtung zu beobachten.

Im Leben sah die erstere genau so aus, wie sie Schaudinn beim *Plasm. vivax* beschreibt. Das Pigment der zunächst ruhig daliegenden Microgametocyten geriet nach wenigen Minuten in heftige Bewegung, strudelte von der Peripherie zum Zentrum und wieder zurück. Dann schnellten plötzlich an einer oder mehreren Stellen der Zelle lange, fadenförmige, stark lichtbrechende Gebilde hervor, welche heftige, schlängelnde Bewegungen ausführten, sich nach einiger Zeit loslösten, und sich mit lebhaften Bewegungen zwischen den Blutkörpern hindurchwanden. Ihre Zahl war gering, betrug meistens nur 4—5. Ich habe nie beobachten können, daß sich alle mit einem Male loslösten, vielmehr waren einige schon frei, während andere erst im Entstehen waren. Nach einiger Zeit hörten die Bewegungen auf, nachdem sie vorher langsamer geworden waren, die Microgameten legten sich schleifen- oder ringartig zusammen und zerfielen körnig. Während ihrer Bildung schob sich das Pigment, von dem einige Körner bei der heftigen Bewegung aus dem Plasma herausgerissen waren, zu einem bräunlichen Haufen zusammen.

Die Kernverhältnisse waren nur an gefärbten Präparaten sichtbar, stimmten ebenfalls mit der SCHAUDINN'schen Schilderung überein. Das Caryosom zerfiel in mehrere Körner, welche sich in dem Chromatingerüst des großen Kernes verteilten. Bei der Bildung der Microgameten schienen sowohl Caryosom- als auch Kernteile in dieselben überzugehen. Es wurde aber nur ein Teil des ersteren verbraucht, und zwar der größte Teil seines Chromatins. Der Rest des Innenkörpers, in welchem die Plastinkomponente überwog, fand sich nachher zu einem nach GIEMSA schwarz-rötlich gefärbten, kompakten Klumpen zusammengeballt. Von der äußeren Kernzone blieb der größte Teil im Restkörper zurück (vgl. hierzu Fig. 33 u. 34).

Auffallend war eine Erscheinung, welche wohl als eine gleichsam abortive Microgametenbildung anzusehen ist. Ich habe dieselbe auch im Magen von Anopheles gefunden. Ob sie immer vorkommt, oder ob sie durch ungeeignete äußere Verhältnisse hervorgerufen wird, läßt sich nicht entscheiden. Einige der Microgameten waren ganz fadendünn, färbten sich blaßrosa, zeigten in ihrem Innern sonst aber überhaupt keine Kernbestandteile. Eigenbewegung war jedoch vorhanden (Fig. 35). Ähnliches beschreibt ZIEMANN bei der menschlichen Malaria. Ich fand solche Gebilde gelegentlich den Macrogameten anliegend, konnte aber nie ein Eindringen feststellen.

Der feinere Bau der normal ausgebildeten Microgameten erwies sich als trypanosomenartig, erinnerte stark an die Befunde, welche HARTMANN bei *Proteosoma* machte.

An einigen konnte man eine größere und eine kleinere Chromatinanhäufung im Innern sehen (Fig. 36). Bei Microgameten, welche frei im Blute lagen und im Absterben begriffen waren, konnte man einen Randfaden erkennen, welcher von dem kleineren Kern ausging. Derselbe scheint sonst dem Plasmaleib anzuliegen und war in solchen Fällen durch Mazeration stellenweise abgelöst (Fig. 37). Die eben geschilderten Kernverhältnisse traten nur bei einem Teile der Microgameten hervor, bei den übrigen war das Chromatin in einzelnen Brocken im Körper verteilt.

HARTMANN führt seine sehr ähnlichen Beobachtungen bei *Proteosoma* auf verfrühte Microgametenbildung und Mazeration zurück. Jedenfalls sind auch dies Befunde, welche für die Flagellatenabstammung der Plasmodien sprechen.

Reduktionsvorgänge an den Macrogametocyten konnten ebenfalls festgestellt werden. Ob dieselben den natürlichen entsprechen, müssen wir dahingestellt sein lassen. Ich konnte an gefärbten Präparaten öfters beobachten, daß ein größerer oder kleinerer Teil des stets

sehr deutlich hervortretenden Caryosoms abgeschnürt war und, mit Chromatin der äußeren Kernzone umgeben, ins Plasma ausgewandert war. Ferner läßt sich aus den gefärbten Präparaten schließen, daß er in abgeblaßtem Zustande aus dem Zelleibe ausgestoßen wird (Fig. 32 u. 38).

In Fig. 38 u. 39 ist eine Befruchtung abgebildet. Derartige Prozesse konnte ich mehrmals feststellen. In Fig. 39 ist der Microgamet vollständig in den Macrogameten eingedrungen. Sein Chromatin hat sich an einer Stelle angesammelt, färbt sich intensiver als in freien Formen. Das Plasma des Microgameten ist nicht zu unterscheiden. Dagegen sieht man deutlich den Weg, welchen dieser genommen hat, als einen helleren, kanalartigen Streifen.

Die Entwicklung von *Plasmodium brasilianum* (Gonder u. v. Gossler) im Blute von *Brachyurus calvus*.

Wie bereits weiter oben erwähnt wurde, gelang es Gonder und mir, im Blute eines aus dem Amazonasgebiet stammenden Ouakari (*Brachyurus calvus*) einen Parasiten aufzufinden, welcher vorher noch nicht beschrieben war. Wir gaben ihm den Namen *Plasmodium brasilianum*. Das Blut des Affen wurde in den folgenden 14 Tagen meist zweimal täglich untersucht.

Dabei ergab sich, daß wir es bei der ersten Untersuchung offenbar mit dem Ende eines Recidivs zu tun hatten, da die schon am ersten Tage nicht sehr zahlreichen Parasiten in den darauf folgenden Tagen an Zahl abnahmen, und die Bildung der Gameten diejenige der Schizonten stark überwog. Krankheitserscheinungen konnten nicht nachgewiesen werden.

Der Parasit unterscheidet sich von allen bisher beschriebenen Plasmodien bei Affen zunächst durch den festen Typus von 72 Stunden seiner Entwicklungsdauer vom Merozoiten bis zur Zerfallsteilung. Halberstädter und Prowazek konstatierten beim *Plasm. pitheci* einen Tertianatypus, Mayer schreibt, daß sich bei subkutan mit *Plasm. cynomolgi* infizierten Affen später ebenfalls ein Tertianatypus herausbildete.

Gerade durch das Fehlen eines festen Typus unterscheidet sich also das *Plasm. Kochi* von allen anderen Malariaparasiten der Affen, ein Punkt, welcher in einem späteren Kapitel seine Erörterung finden soll.[1])

Auch sonst hat das *Plasm. brasilianum* viel Ähnlichkeit mit dem menschlichen Quartanparasiten, so namentlich in bezug auf das Aussehen des Pigments, auf seine amöboide Beweglichkeit und sein Verhältnis zu den roten Blutkörperchen.

Alle Formen scheinen den Erythrocyten aufzuliegen, wenigstens war niemals Tüpfelung, Vergrößerung und Abblassung der roten Blutkörperchen zu konstatieren.

Die ausgewachsenen Schizonten, welche direkt vor der Zerfallsteilung stehen, liegen teils frei im Plasma, in welchem Falle sie sich wohl entweder freiwillig von ihrer Wirtszelle getrennt hatten, oder beim Ausstreichen von den Blutkörperchen abgezogen waren, teils liegen sie auf einem morphologisch anscheinend unveränderten Erythrocyten.

Das Pigment ist von bräunlicher Farbe, etwas dunkler als beim *Plasm. Kochi*, erinnert, wie vorher erwähnt wurde, an dasjenige bei der menschlichen Quartana, infolge der brockenförmigen Gestalt der Körnchen. Beim Macrogameten sind diese viel zahlreicher, zeigen oft die Form plumper Stäbchen.

Bei diesen Parasiten lassen sich ebenfalls schon in den Merozoiten kurz vor dem Freiwerden ganz ähnliche, eigenartige Kernverhältnisse konstatieren, wie ich sie bei *Plasm. Kochi* beschrieb (vgl. Fig. 41 mit Fig. 60).

Man erkennt dann eine polkappenartige Anordnung dunkler gefärbten Chromatins an der Peripherie der Kerne, ebenso eine Ausstoßung derartiger Substanz in Gestalt von nach Giemsa dunkel gefärbten Körnern; etwas später vermischt sich das Chromatin des Caryosoms innig mit demjenigen des äußeren Kernes. was man aus einer von da ab ziemlich gleichmäßigen Kernstruktur schließen kann (Fig. 41 u. 42).

Nachdem die zu Schizonten werdenden Merozoiten von einem Blutkörperchen Besitz ergriffen haben, scheint der vorher deutlich erkennbare kleinere Kern, welcher mit dem Hauptkern durch einen

[1]) Wie mir Gonder u. Rodenwaldt mitteilten, konnten sie bei ihren späteren Experimenten ausnahmsweise einen festen Typus feststellen, der dem Tertianatypus entsprach, so daß also dieses obengenannte Unterscheidungsmerkmal hinfällig geworden ist.

achromatischen Faden in Verbindung stehen kann (Fig. 42), in den Hauptkern hineinzurücken, wenigstens habe ich einen zweiten Kern bei dem Blutkörper aufsitzenden ganz jungen Formen nie nachweisen können, während er bei mittelgroßen Schizonten dann wieder in Erscheinung tritt. Die nächstälteren Parasiten der indifferenten Generation zeigen sehr häufig die von Ziemann für die Schizonten der menschlichen Quartana als typisch beschriebene Bandform (Fig. 43—45). Der Kern ist im Verhältnis zum Plasma ziemlich groß, sein Gefüge ist aufgelockert, meist ohne mit Sicherheit einen dunkler gefärbten Innenkörper erkennen zu lassen.

Das Plasma ist grobalveolär gebaut, zeigt nur hin und wieder eine größere oder mehrere kleinere Vacuolen, welche aber nicht konstant sind. Das Pigment ist noch sehr spärlich.

Etwas ältere Stadien (Fig. 46—50), welche man ebenfalls wegen ihrer amöboide Beweglichkeit ausdrückenden Körperform, wegen ihres spärlichen Pigmentes und des Baues ihres Kernes als indifferente Formen ansprechen muß, zeigen scheinbar immer einen in seiner Größe und Färbbarkeit schwankenden, kleinen, zweiten Kern, welcher durch Abschnürung aus dem Hauptkern entstanden ist und mit demselben durch einen dünnen Achromatinfaden, welchen man an günstigen Präparaten nachweisen kann, verbunden ist (Fig. 46—48). Ich verweise hierzu auf die vorläufige Mitteilung.

Eine Erklärung dieser Zweikernigkeit werde ich im folgenden Kapitel zu geben suchen. Ich will an dieser Stelle nur auf die Ansicht Schaudinn's hinweisen, nach welcher die Plasmodien mit den Trypanosomen verwandt sind. Die folgenden Figuren sind nur zu erklären, wenn wir den zweiten Kern als ein morphologisch dem Blepharoplast der Trypanosomen entsprechendes Organell ansehen, welches durch den Zellparasitismus seine lokomotorische Funktion verloren, dagegen andere Funktionen, sowie seine generative Kernsubstanz behalten hat. In Fig. 49 sehen wir eine als Teilungsvorgang zu deutende, hantelförmige Zerschnürung dieses zweiten Kernes, nebst Verdoppelung des Fadens, welcher ihn mit dem Hauptkerne verbindet. Die in Fig. 50 abgebildete Kernkonfiguration könnte man eventuell als darauffolgendes Stadium ansehen: Die zwei, durch Teilung des zweiten Kernes entstandenen Nebenkerne rücken in den sich zur ersten Teilung anschickenden Hauptkern hinein.

Die Vermehrung des Kernes (Fig. 51—57) sieht wie eine einfache Kernzerschnürung aus. Feinere Verhältnisse, wie beim *Plasm. Kochi* ließen sich nicht mit Sicherheit färberisch nachweisen. Die gelegentlich beobachteten, dunkler gefärbten Körnchen können

nicht mit Sicherheit verwertet werden, da ich sie nicht konstant antraf. Damit ist aber keineswegs bewiesen, daß ein feinerer Mechanismus, wie er beim *Plasm. Kochi* beschrieben wurde, überhaupt nicht vorliegt. Vielmehr muß ein solcher in Analogie mit den anderen Plasmodienarten (vgl. auch das Kapitel über die menschlichen Malariaparasiten) als sicher angenommen werden. Man darf nicht vergessen, daß der ziemlich voluminöse und chromatinreiche Kern ein Körper ist, in dessen Innern sich sehr komplizierte Prozesse abspielen können, welche durch die darüber liegenden Chromatinmassen einfach verdeckt waren. Auch die Vorgänge am Ende der Kernteilungen, welche soviel Ähnlichkeit mit denjenigen bei *Plasm. Kochi* haben, sprechen gegen die Annahme einer einfachen Durchschnürung. Während der Teilung werden die Kerngrenzen immer verwischter, wir begegnen ganz verwaschenen und unregelmäßigen Figuren, welche auf einen lebhaften Stoffaustausch zwischen Kern und Plasma schließen lassen (Fig. 54—56). Bei der Zerfallsteilung werden 8—12, meistens 8 Merozoiten gebildet.

Im Folgenden werde ich den Entwicklungsgang der zu Gameten werdenden Merozoiten, deren Merkmale und Entwicklung im wesentlichen denjenigen bei *Plasm. Kochi* entsprechen, beschreiben. Bei ihnen fehlt, während sie größer werden, die Bildung einer Vacuole. Sie wachsen ebenso schnell wie die Schizonten, zeigen eine rundliche Körperform, ein morphologischer Ausdruck ihrer geringen amöboiden Beweglichkeit. Fig. 61 zeigt eine solche noch undifferenzierte Form, bei der das Caryosom aufgelockert ist, aber doch noch seine ursprüngliche Gestalt erkennen läßt.

Überhaupt eignet sich dieser Parasit, dank seiner nahen Verwandtschaft mit dem schon genauer erforschten menschlichen Quartanparasiten, welche bis zu einem gewissen Grade Analogieschlüsse zuläßt, besonders gut zur Aufdeckung der Entwicklungsgeschichte der Gameten. Man kann diese, auch abgesehen von den Kernverhältnissen, schon in jungen Stadien durch geringere amöboide Beweglichkeit, größeren Pigmentreichtum, Mangel einer Vacuole usw., deutlich von den Schizonten unterscheiden. Nur in solchen Formen konnte ich das eigenartige Caryosom, welches bei einem Teile der Schizogonien gebildet wird, wenn auch später meistens in undeutlicherer Gestalt, nachweisen. Bei sämtlichen anderen Plasmodienarten sind die Vorgänge bei der Differenzierung der Gameten lange nicht so leicht zu erkennen.

Bei der Entwicklung zu Macrogametocyten wird die Kerngrenze undeutlich, Teile des Kernes werden an das Plasma abgegeben (Fig. 62).

Letzteres nimmt bei Giemsa-Färbung eine immer dunklere Färbung an, sein Gefüge wird kompakter, während reichliches, bald zu groben Körnern heranwachsendes Pigment gebildet wird. Schließlich haben wir Formen vor uns, welche ein sehr reservestoff- und pigmentreiches Plasma und einen verhältnismäßig kleinen Kern besitzen. In diesem hebt sich ein rundes oder ovales, dunkler gefärbtes Caryosom deutlich ab (Fig. 63 u. 64). Figur 65 stellt einen Macrogametocyten dar, welcher offenbar dem Untergange geweiht ist, da er sein Caryosom ins Plasma ausgestoßen hat, wo es resorbiert zu werden scheint. Ob diese Caryosomausstoßung, welcher wir bei den Protozoen häufiger begegnen, als Abspaltung trophischen Chromatins anzusehen ist, oder ob sie nur als pathologischer Vorgang gedeutet werden muß, läßt sich nicht entscheiden, da wir die Reifung der Geschlechtsformen bei diesem Plasmodium nicht haben beobachten können.

Bei der Entwicklung der Microgametocyten lockert sich der Kern stark auf, so daß man meistens mit Bestimmtheit kein Caryosom mehr erkennen kann. Dahingegen scheint bei den jungen Formen kein Chromatin ins Plasma auszutreten. Dieses bleibt bei der Giemsa-Färbung hell, ist weitmaschig strukturiert, die Pigmentbildung ist viel schwächer als bei den Macrogametocyten. Fig. 66 zeigt eine größere Form, bei der aber die eigenartige Kernstruktur noch deutlich zu erkennen ist. Bei den ausgewachsenen Microgametocyten fließt der Kern gleichsam auseinander und bildet gelegentlich ein ausgesprochenes Chromidialnetz (Fig. 68 bis 71). Die Bedeutung dieser Chromadialbildung ist zweifelhaft. Entweder ist sie als Wiederherstellung der Kernplasmarelation im Sinne Hertwigs zu deuten, oder wir müssen darin eine Abspaltung trophischen Chromatins erblicken. Vielleicht werden durch die Auflösung dieser Chromidien dem Plasma Stoffe zugeführt, welche ein längeres Weiterleben möglich machen.

Vergleiche mit der menschlichen Malaria.

Die kurze Zeit, welche mir am Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten noch übrig blieb, benutzte ich dazu, um eine Reihe von gefärbten Präparaten von menschlicher Malaria durchzusehen und einige dort gefundene Kernverhältnisse mit denjenigen bei *Plasm. Kochi* und *brasilianum* zu vergleichen.

Dabei ergaben sich manche Analogien, von denen die wichtigste die Unterscheidbarkeit gameten- und schizontenbildender Schizogonien sein dürfte. Die größte Ähnlichkeit bestand, wie schon oben erwähnt wurde, zwischen *Plasm. brasilianum* und dem menschlichen Quartanparasiten. Ich konnte bei letzterem ebenfalls zwei verschiedene Schizogonieformen unterscheiden. Die morphologischen Kernunterschiede sind aber nicht so stark in die Augen fallend wie bei den Affenparasiten. Der Kern der jüngsten Geschlechtsformen weist hier ebenfalls ein größeres Caryosom auf, dessen Form vielfach der vorher besprochenen Hufeisenform ähnelt, wie Fig. 76 zeigt. (Fig. 77 stellt einen etwas älteren Gameten dar.)

Wesentlich anders sieht Fig. 72 aus, in welcher eine weit vorgeschrittene Schizogonie abgebildet ist, bei welcher es zur Bildung eines zweiten Kernes, wie es bei den Affenparasiten die Regel zu sein scheint, gekommen ist. Die Entstehung eines solchen, welche von mehreren Autoren erwähnt wird, scheint nur bei einem Teil der Fälle einzutreten. Sehr oft kann man den Nebenkern noch innerhalb der Kernmembran vorfinden, wie Fig. 74 zeigt. Die weitere Entwicklung der Gameten scheint derjenigen bei *Plasm. brasilianum* zu entsprechen. Fig. 78 zeigt ein Stadium, welches Fig. 22 analog sein dürfte. Wir faßten diesen eigenartigen Vorgang als eine frühzeitige Rückbildung der Geschlechtsform zur indifferenten auf.

Die Kernteilung hat viele Ähnlichkeit mit derjenigen bei *Plasm. Kochi.* In Fig. 75 sehen wir die Tätigkeit des Caryosoms. Dasselbe ist nicht immer nachzuweisen, da es in vielen Fällen wohl durch Chromatinmassen verdeckt ist. Die Chromatinabspaltung an der äußeren Kernzone und dem Caryosom scheint ebenfalls in ähnlicher Weise zu verlaufen. Die Bildung einer Äquatorialplatte, wie sie Schaudinn bei Tertiana beschreibt, habe ich nicht finden können.

Als demnächst am ähnlichsten erwies sich der Tropicaparasit. Hier ist die Kernform der jüngsten Gametocyten derjenigen der jüngsten Geschlechtsformen des *Plasm. Kochi* ungemein ähnlich. Das Caryosom erscheint als zwei aneinander liegende rundliche Körner, welche aber zusammenzuhängen scheinen. Fig. 80 zeigt eine solche Form, während Fig. 79 einen jungen Schizonten darstellt, in welchem es zur Ausbildung eines zweiten Kernes gekommen ist. Daß der Nebenkern bei der menschlichen Malaria schließlich wieder in den Hauptkern hineindrückt, wissen wir von Hartmann. Fig. 81 zeigt einen etwas älteren Gameten, welcher Charakteristica der jungen Geschlechtsformen, in erster Linie Lage des Kernes innerhalb der nur schwach angedeuteten Vacuole (Ruge) aufweist.

In der Literatur habe ich bis auf eine Bemerkung Ziemann's, daß die mit einem größeren Chromatinkorn ausgestatteten jüngsten Formen vielleicht junge Mikrogametocyten seien, nichts über einen schon von vornherein vorhandenen Dimorphismus der jüngsten Formen finden können. Es ist hierbei zu bemerken, daß die beiden Körner des Caryosoms der ganz jungen Gameten auf den ersten Blick oft als ein Chromatinklumpen erscheinen und häufig erst durch geeignete Färbung als doppelt zu erkennen sind.

Ein Vorgang, welcher bei Tropica bekannt ist, dessen Erwähnung ich jedoch in der Literatur nicht habe finden können, wurde, wie vorher schon erwähnt wurde, häufiger bei *Plasm. Kochi* beobachtet, nämlich die direkte Zweiteilung junger Parasiten. Dieselbe wurde in unseren Fällen als Degenerationszeichen gedeutet. Ich glaube, man muß bei jungen Tropicaparasiten drei Arten von Zweikernigkeit unterscheiden: erstens durch Auseinanderrücken der beiden Caryosomkörner junger Geschlechtsformen entstandene Bilder, zweitens Ausbildung eines dem Blepharoplast entsprechenden Nebenkernes, drittens Kernteilung, welche eine direkte Zweiteilung einleitet. Die erste Möglichkeit erklärt eine Beobachtung Lühes, welcher unter Umständen eine echte Kernteilung bei jungen Parasiten wegen der stets runden Form der Kerne für ausgeschlossen hält. Es ist möglich, daß ein solcher Vorgang eine frühzeitige Reduktion junger Gameten zu indifferenten einleitet.

In betreff der Tüpfelung, welche derjenigen bei mit *Plasm. Kochi* sekundär infizierten Affen ähnlich ist, verweise ich auf das betreffende Kapitel.

Bei den freien Merozoiten des Tertianparasiten waren Unterschiede in der Gestalt der Kerne erheblich schwerer zu erkennen. Schaudinn bestreitet in seiner großen Tertianaarbeit geschlechtliche Differenzierungen, erwähnt nur, die Menge des Chromatins der Merozoiten sei schwankend. Gelegentlich findet man ovale Kerne. In seiner späteren Arbeit über den Generationswechsel bei *Trypanosoma* und *Spirochaete* dagegen erwähnt er ganz kurz, daß auch Unterschiede zwischen den Merozoiten gefunden habe. In Fig. 82 u. 83 sind freie Tertianmerozoiten abgebildet, bei denen die Kernunterschiede in die Augen fallend sind. Bei einigen derjenigen Formen, welche wir als omnipotente ansprechen, zeigt das Caryosom eine angedeutete Nierenform. Allerdings habe ich auch Merozoiten mit sehr großem Innenkörper gefunden, bei denen dieser runde Form besaß.

Die Teilung scheint bei *Tertiana* in anderer Weise zu verlaufen, als bei *Plasm. Kochi, brasilianum, malariae* und *immaculatum*. Bei all'

diesen Parasiten habe ich nicht die Ausbildung von Tochterplatten, wie sie SCHAUDINN bei *Tertiana* beschreibt, beobachten können.

Was das Pigment anbelangt, so habe ich schon vorher erwähnt, daß ein Hauptunterschied zwischen demjenigen von *Plasm. Kochi* und *Plasm. vivax* besteht. Ich habe im Leben kaum unterscheidbare Entwicklungstadien dieser beiden Parasiten mit demselben Mikroskop und demselben Polarisationsapparat nacheinander untersucht. Während die Pigmentkörner bei *Plasm. vivax*, wie bekanntlich SCHAUDINN zuerst beschrieb, bei gekreuzten Nikols als leuchtende Punkte hervortraten, löschten sie bei *Plasm. Kochi* stets aus.

Leider fehlte mir die Zeit, die menschlichen Malariaparasiten genauer in bezug auf mehr Einzelheiten mit den Affenparasiten zu vergleichen.

Die Bedeutung des Caryosoms und des zweiten Kernes.

In betreff der Rolle, welche das Caryosom der Protozoen spielt, finden wir bei den Autoren teilweise recht abweichende Angaben.

MOROFF leugnet überhaupt eine direkte generative Funktion desselben, hält es vielmehr lediglich für ein den Nucleolen der Metazoen analoges Gebilde, welches als Bildungsstätte des Chromatins funktioniert. Dieses tritt dann ins Plasma über und verwandelt sich in histologische Differenzierungen, wie Cystenhüllen, harte Skelette usw., ferner in Reservestoffe, wie Amylon, Paramylon usw. Das Centrosom der Metazoen soll ebenfalls dem Caryosom analog sein.

SIEDLECKI kommt zu ähnlichen Schlüssen: Das Chromatin des Caryosoms ersetzt den Verlust des peripheren Chromatins, von welchem Teile beim Wachstum in das Plasma übergehen. Das Caryosom brauche aber nicht immer nur trophisch zu funktionieren, unter Umständen könne sogar ein Teil der generativen Kernsubstanz in demselben enthalten sein. Dieser Autor hält aber den Kernapparat der Protozoenzellen für absolut einheitlich, im Gegensatze zu HARTMANN und PROWAZEK, welche ihn, wenigstens bei den meisten Protisten, als ein gleichsam ineinandergeschachteltes Amphicaryon deuten, in welchem das Caryosom dem Blepharoplasten der Trypanosomen, dem Zentralkorn der Acanthocystiden, dem Nebenkern der Paramöba und ähnlichen Gebilden entspricht. Es ist also als vollwertiger Kern, welcher nicht nur trophische, sondern vor allem auch generative Funktionen zu erfüllen hat, anzusehen. Die Substanz des Innenkörpers ist in erster

Linie Träger des formgebenden Prinzips, der lokomotorischen Funktion und der defensiven Zelltätigkeit. Ein sehr wichtiger Punkt ist das Bestehen starker cyclischer Vorgänge am Caryosom, resp. den ihm entsprechenden Gebilden. Auch hierin ergeben sich Übereinstimmungen mit dem Centrosom der Metazoen, dessen cyclische Natur Boveri, sowie Vejdovsky und Mrazek nachwiesen.

Cyclische Vorgänge spielen sich auch bei dem Caryosom von *Plasm. Kochi* ab, besonders zur Zeit des stärksten Wachstums, bevor die Vermehrungsteilungen des Kernes beginnen. Wir treffen es dann meist in sehr geringer Größe an. Ich erinnere hierbei an die Beobachtungen Hartmann's an *Entamoeba tetragena*, welche in vieler Beziehung den eben geschilderten ähnlich sind.

Bei der Teilung sahen wir, daß das meist sehr kleine Caryosom sich hantelförmig zerschnürt und den Kern unter Bildung von schwach angedeuteten Polkappen zerstemmt. Die achromatische Substanz zwischen den Tochtercaryosomen ordnet sich streifenförmig an. Einem ähnlichen Teilungsmodus begegnen wir bei den Protozoen häufig, und zwar besonders bei Amöben, Coccidien und Flagellaten. Tochterplattenbildung, wie sie z. B. Rosenbusch bei den im übrigen mit unseren Parasiten übereinstimmenden Kernteilungen der Trypanosomen beschreibt, habe ich nicht nachweisen können, jedoch ist es wahrscheinlich, daß nach Beseitigung der großen Schwierigkeiten, welche bei der feuchten Fixierung und Eisenhämatoxylinfärbung, wie oben erwähnt, auftraten, sich auch in diesen Punkten Übereinstimmungen zwischen Trypanosomen und Plasmodien ergeben werden.

Das Caryosom macht in unserem Falle stets den Eindruck eines selbständig funktionierenden zweiten Kernes, welcher sowohl trophische, als auch generative Bedeutung hat. Bei der Teilung stößt sowohl der periphere Teil des Kernes, als auch der Innenkörper Chromatin ins Plasma aus, und zwar wird es dort durchaus nicht immer aufgelöst, so daß man von Beziehungen zu funktionierenden Bestandteilen des Plasmas im Sinne Moroff's reden könnte, vielmehr geht sein größter Teil als nutzlos zugrunde, wie es aus dem häufigen Verbleiben von Chromatinmassen im Restkörper erhellt.

Dieser streng durchgeführten Selbständigkeit der Kernhohlkugel und des Caryosoms begegnen wir überall in der Entwicklung unserer Parasiten.

Im Kern der jüngsten Geschlechtsformen fällt vor allem die relative Größe des Caryosoms auf. Bei der Differenzierung der weiblichen Gameten sehen wir, wie sich dasselbe verkleinert, während das Plasma sich verdichtet und mehr und mehr Reservestoffe und

Pigment aufspeichert. Bei *Plasm. brasilianum* konnte man besonders deutlich ein Ausstoßen von Chromatinmassen aus dem Caryosom beobachten, wie Fig. 62 zeigt. Wie von mehreren Autoren nachgewiesen wurde, steht das Chromatin zur Produktion von Reservestoffen in Beziehung, und zwar nach Prowazek dasjenige der äußeren Kernzone. Bei der Differenzierung der Macrogametocyten bei den Malariaplasmodien scheint es überhaupt in erster Linie das Caryosom zu sein, welches in irgendeinem Verhältnis zur Reservestoffbildung steht. Bei den Microgametocyten, bei denen das Plasma weniger kompakt und flüssiger zu sein scheint, werden Teile des Innenkörpers nicht zur Kräftigung und Festigung des Plasmas verbraucht, sondern aufgespart, um später Kernanteile mehrerer Microgameten zu liefern.

Auch bei der Reifung der Macrogametocyten und bei der Bildung der Microgameten sehen wir die Selbständigkeit der ineinander geschachtelten Kerne. Bei der Reduktion der weiblichen Formen wird sowohl von der äußeren Kernzone, als auch vom Caryosom Chromatin abgespalten, bei der Microgametenentwicklung wird ein Teil des Caryosoms, sowie des peripheren Chromatins im Restkörper zurückgelassen.

Was die Abstoßung der einen Kernhälfte betrifft, welche wir als eine frühzeitigere Rückbildung der noch undifferenzierten Geschlechtsform zum Schizonten ansahen, so wurden derartige Vorgänge nicht häufig genug beobachtet, um die weitere Entwicklung dieser Formen verfolgen zu können.

Der bei den Affenplasmodien fast immer, bei den menschlichen Malariaparasiten erheblich seltener auftretende zweite Kern kann von sehr verschiedener Größe sein. Dasjenige Gebilde, welches auf den ersten Blick als ganzer Nebenkern imponiert, müssen wir nur als das Caryosom desselben ansehen, und zwar in Analogie zu den Befunden Rosenbusch's an Trypanosomen. Es gelang ihm nämlich der Nachweis, daß der Blepharoplast eine große, achromatische, periphere Zone besitzt, welche jedoch nur selten als solche erkennbar ist, zumal an Trockenpräparaten. Die Berechtigung, den zweiten Kern der Plasmodien mit dem Blepharoplast zu analogisieren, nehmen wir aus seiner Entwicklungsgeschichte, wie sie bei *Plasm. Kochi* geschildert wurde, welche derjenigen des lokomotorischen Kernes der Trypanosomen durchaus entspricht, ein Punkt, welchen Hartmann schon erwähnte. Von Wichtigkeit ist ferner, daß gelegentlich ein achromatischer Faden nachweisbar ist, durch welchen er mit dem Caryosom des Hauptkernes dauernd verbunden sein kann.

Der zweite Kern beweist somit die Verwandtschaft der Plasmodien mit frei im Blutplasma schwärmenden Flagellaten. Ein derartiges Gebilde wurde auch bei anderen, mehr oder weniger an das zellparasitäre Leben angepaßten Hämosporidien nachgewiesen. Ich erinnere nur an *Halteridium*, *Leucocytozoon*, *Babesia* und namentlich *Proteosoma*; ferner an die zuweilen bestehende Zweikernigkeit bei einer Hämogregarine aus dem Gecko, welche Prowazek bearbeitete.

Durch die Anpassung an den Zellparasitismus hat der Nebenkern, welcher jedenfalls ein vollwertiger zweiter Kern ist, seine lokomotorische Funktion eingebüßt. Ob er dafür irgendwelche andere spezielle Funktionen erfüllt, läßt sich nicht entscheiden. Da er sich stets in unmittelbarer Nähe der Nahrungsvacuole befindet, liegt der Gedanke nahe, daß er zu dieser in Beziehung tritt. Er kann gelegentlich Chromatin abspalten und endlich, sowohl außerhalb, als innerhalb des Hauptkernes, den Anstoß zur Teilung geben.

Wie vorhin erwähnt wurde, konnte bei *Plasmodium brasilianum* eine Teilung des zweiten Kernes, sowie des Verbindungsfadens nachgewiesen werden. Ob dies bei diesen Parasiten häufig eintritt, kann wegen der Spärlichkeit des uns zur Verfügung stehenden Materials nicht gesagt werden. Abnorme Verhältnisse wären nicht ganz auszuschließen, da die Parasiten stark im Abnehmen begriffen waren. Bekanntlich konnte Schaudinn bei *Oxyrrhis marina* nachweisen, daß das Caryosom unter abnormen Bedingungen (stark verdünntes Seewasser) aus dem Kern herausrücken, sich selbständig teilen und vom Plasma aus die Teilung der übrigen Kernmassen leiten kann.

Systematisches.

Wenn wir die systematischen Ergebnisse dieser Arbeit zusammenfassen, so finden wir zunächst einige weitere Stützpunkte für die Schaudinn'sche Theorie von der Abstammung der zellparasitären Blutschmarotzer von frei im Plasma lebenden Flagellaten. Ich glaube den Nachweis erbracht zu haben, daß der Nebenkern des *Plasm. Kochi* insofern dem Blepharoplast der Trypanosomen entspricht, als er aus dem Caryosom des Hauptkernes entsteht und in Verbindung mit demselben bleibt. Ich glaube nicht zu weit zu gehen, wenn ich diesen Entstehungsmodus bis zu einem gewissen Grade auf den Nebenkern der menschlichen Malariaparasiten verallgemeinere. Bei

demselben habe ich allerdings die vorher geschilderten feineren Verhältnisse nicht nachweisen können, wenn wir aber bedenken, wie schwer sich ein sehr kleines Caryosom unter Umständen sichtbar machen läßt, da es von Chromatinmassen verdeckt sein kann, so steht meiner Ansicht nach der Annahme eines solchen Gebildes nichts im Wege, zumal sich so große Ähnlichkeiten bei der Teilung finden.

Eine weitere Stütze ist der Nachweis einer direkt nach dem Trypanosomentypus gebauten Form innerhalb des Entwicklungskreises von *Plasm. Kochi.* Ich meine damit die Microgameten, bei denen ich, wenigstens zum Teil, einen Blepharoplast und einen Randsaum, welcher von denselben ausgeht, nachweisen konnte, ein Befund, welcher sehr schön mit demjenigen von Hartmann bei *Proteosoma* übereinstimmt. Begeißelte Merozoiten, wie sie Plehn und Schaudinn bei *Tertiana*, Hartmann bei *Proteosoma* erwähnen, habe ich nicht finden können. Da der Überträger nicht entdeckt wurde, standen mir keine Sporozoiten, bei denen Schaudinn bei *Tertiana* zum Teil trypanosomenartigen Bau nachwies, wie er in der Arbeit über *Trypanosoma* und *Spirochaete* kurz erwähnt, zur Verfügung.

Hartmann faßt sämtliche Flagellaten, welche einen Blepharoplasten besitzen, als *Binucleata* zusammen, faßt die Hämosporidien als durch intracelluläre Lebensweise rückgebildete, trypanosomenartige Flagellaten auf und stellt eine phylogenetische Reihe zusammen, nach dem Grade der Rückbildung des Geißelapparates und der Anpassung an das intracelluläre Leben, von der Gattung *Trypanosoma* über *Leishmannia*, *Piroplasma*, *Halteridium*, *Proteosoma* bis zu den menschlichen Malariaparasiten. Diese Reihe können wir weiter ausbauen, und zwar auf Grund folgender Überlegung:

Plasm. Kochi scheint einer wohl zu postulierenden Urform der eigentlichen Plasmodien sehr nahe zu stehen. Dies erhellt erstens aus dem häufigen Fehlen eines festen Typus, wie er bei allen anderen Plasmodien nachgewiesen ist. Dies deutet wohl auf das Bestehen einer niedrigeren Stufe des Parasitismus hin. Ein zweiter Punkt ist die Häufigkeit der Blepharoplastbildung, welche auf eine nähere Verwandtschaft mit den vorher erwähnten Ahnen hindeutet, ferner vielleicht auch die Klarheit der Kernverhältnisse. Endlich ist in dieser Hinsicht noch die starke Anpassungsfähigkeit an den betreffenden Wirt heranzuziehen, welche aus der großen Variationsfähigkeit, wie sie im dritten Kapitel erwähnt wurde, zum Teil hervorgeht.

Plasm. Kochi erinnert in vieler Beziehung an die verschiedenen *Polychromophilus*-Arten der Fledermaus. Zwischen diese und die Piroplasmen stellt Gonder den *Achromaticus vesperuginus.*

Nach den Beobachtungen Hartmann's scheint *Proteosoma* den Piroplasmen noch näher zu stehen, als *Plasm. Kochi.* Dort tritt ein Blepharoplast auch in den Gameten deutlich auf, ferner ist der trypanosomenartige Bau der Microgameten noch deutlicher ausgesprochen, und endlich wurden freie Merozoiten mit Geißel und Randsaum gefunden.

Das *Plasm. brasilianum* steht dem menschlichen Quantanparasiten nahe, das *Plasm. inui* resp. *cynomolgi* hat viele Ähnlichkeit mit dem Tertianparasiten, wie Halberstädter und Prowazek, sowie Mayer hervorheben. Der javanische Parasit scheint als einziger die Bildung von Tochterplatten (Mayer) mit dem *Plasm. vivax* gemein zu haben.

Man könnte also die phylogenetische Reihe Hartmann's folgendermaßen weiter ausbauen:

Babesia, Achromaticus, Polychromophilus, Proteosoma, Plasm. Kochi, von diesem ausgehend 1. *Plasm. brasilianum* und *Plasm. malariae,* 2. *Plasm. inui* und *Plasm. vivax,* 3. *Plasm. immaculatum.*

Am Schlusse dieser Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Dr. Gonder für seine liebenswürdige Unterstützung, Belehrung und Hilfe meinen verbindlichsten Dank auszusprechen, ebenso Herrn Dr. Hartmann für seine freundlichen Ratschläge.

Literaturverzeichnis.

1) Boveri: Zellstudien. Heft 4. Über die Natur der Centrosomen. Jena 1900.
2) Dionisi: Die Malaria einiger Fledermausarten. Unters. z. Naturl. d. Menschen u. d. Tiere Bd. 17 Heft 3 u. 4.
3) Dogiel: Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 8.
4) Dutton, Todd u. Tobey: Certain parasiting Protozoa observed in Africa. Liverpool School. Mem. 21 1906.
5) Flu: Untersuchungen über Affenmalaria. Arch. f. Protistenk. Bd. 12 1908.
6) Goldschmidt: Die Chromidien der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 5.
7) Gonder: Achromaticus vesperuginis. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 24 1906.
8) Gonder u. v. Berenberg-Gossler: Untersuchungen über Malariaplasmodien der Affen. Vorl. Mitteil. Malaria Bd. 1 Heft 1.
9) Halberstädter u. Prowazek: Untersuchungen über die Malariaparasiten der Affen. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 26 1907.
10) Hartmann: Praktikum der Protozoologie. in: Kisskalt u. Hartmann, Praktikum. Jena 1907.
11) —: Das System der Protozoen, zugleich vorläufige Mitteilung über Proteosoma. Arch. f. Protistenk. Bd. 10.
12) —: Neuere Forschungen über pathogene Protozoen. Ref. im Centralbl. f. Bacteriol. Bd. 42 1908, Beiheft.
13) —: Eine neue Dysenterieamöbe, Entamoeba tetragena (Viereck) syn. Entamoeba africana (Hartmann). Verhandl. d. deutschen tropenmed. Ges., Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12 1908, Beiheft 5.
14) Hartmann u. v. Prowazek: Blepharoplast, Caryosom und Centrosom. Arch. f. Protistenk. Bd. 10.
15) Hertwig, R.: Über das Wechselverhältnis zwischen Kern und Protoplasma. München 1903.
16) —: Über physiologische Degeneration bei Actinosphaerium eichhorni. Festschrift f. Haeckel. Jena 1904.
17) Kossel: Zeitschr. f. Hyg. Bd. 32.
18) Lühe: Im Handbuch der Tropenkrankheiten von Mense. 1906.
19) Mannaberg: Die Malariakrankheiten. Im Handb. d. spez. Pathol. u. Ther. von Nothnagel 1899.
20) Maurer: Die Tüpfelung der Wirtszelle des Tertianparasiten. Centralbl. f. Bacteriol. Bd. 28 1900.
21) —: Die Malaria perniciosa. Centralbl. f. Bacteriol. Bd. 32 1902.
22) Mayer: Über Malaria beim Affen. Med. Klinik Nr. 20 1907.
23) —: Über Malariaparasiten beim Affen. Arch. f. Protistenk. Bd. 12 1908.
24) Moroff: Untersuchungen über Coccidien. I. Adelea zonula. Arch. f. Protistenk. Bd. 8.
25) —: Die bei den Cephalopoden vorkommenden Aggregataarten als Grundlage einer kritischen Studie über die Physiologie des Zellkernes. Arch. f. Protistenk. Bd. 11.

26) v. Prowazek: Taschenbuch der Protistenuntersuchung. Leipzig 1907.
27) —: Die Sexualität bei den Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 9 1907.
28) —: Untersuchungen über Hämogregarinen. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 26 1907.
29) —: Bemerkungen zu dem Geschlechtsproblem bei den Protozoen. Zool. Anz. Bd. 32 Nr. 26.
30) Rosenbusch: Kern und Kernteilung bei Trypanosomen und Halteridium. (Vorl. Mitteil.) Verhandl. d. deutsch. tropenmed. Gesellsch., Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12 1908, Beiheft 5.
31) —: Trypanosomenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 15 Heft 3.
32) Ruge: Einführung in das Studium der Malariakrankheiten. 1906.
33) Schaudinn: Über das Zentralkorn der Heliozoen. Verh. der deutsch. Zool. Ges. 1896.
34) —: Der Zeugungskreis von Plasm. vivax. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 19. 1903.
35) —: Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 19 1903.
36) —: Der Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochäte. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 20. 1904.
37) —: Neue Forschungen über die Befruchtung bei Protozoen. Verh. d. deutsch. Zool. Ges. 1905.
38) Siedlecki: Über die Bedeutung des Caryosoms. Extrait du Bull. de l'Acad. des sciences de Cracovie 1905.
39) Vejdovský u. Mrázek: Die Umbildung des Cytoplasmas während der Befruchtung und Zellteilung. Nach Untersuchungen am Rhynchelmisei. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 62.
40) Ziemann: Im Handbuche der Tropenkrankheiten von Mense. 1906.

Tafelerklärung.

Die Figuren wurden mit einem Abbé'schen Zeichenapparat entworfen unter Benutzung eines Zeiss'schen Mikroskops. Homog. Immers. 2 mm, Fig. 82 u. 83 mit Comp. Oc. 18, die übrigen mit Comp. Oc. 12.

Tafel XVI.

Fig. 1—39. *Plasmodium Kochi.*

Fig. 1. Indifferente freie Formen, lebend.
Fig. 2—6. Jüngere Schizonten, lebend.
Fig. 7 u. 8. Junge Gameten, lebend.
Fig. 9. In Zerfall begriffener Schizont, der die indifferente Generation liefert, lebend.
Fig. 10. Etwas jüngeres Stadium.
Fig. 11. Junger Schizont.
Fig. 12 u. 13. Bildung des Nebenkernes.
Fig. 14—17. Kernteilungen.
Fig. 18 u. 19. Schizogonien, welche Gameten liefern.
Fig. 20. Doppelinfektion. Oben junger Gamet, unten junger Schizont.
Fig. 21. Junger Gamet, dessen Caryosomhälften auseinandergerückt sind.
Fig. 22. Reduktion eines jungen Gameten zum Schizonten?
Fig. 23. Junger Gamet mit Nebenkern.
Fig. 24 u. 25. Macrogametocyten.
Fig. 26 u. 27. Microgametocyten.
Fig. 28. Macrogametocyt mit eigenartiger Kernkonfiguration.
Fig. 29—31. Degenerationsformen.
Fig. 32. Reduktion des Macrogameten vor der Befruchtung.
Fig. 33 u. 34. Microgametenentwicklung.
Fig. 35. Mangelhaft ausgebildeter Microgamet.
Fig. 36. Microgamet mit Hauptkern und Blepharoplast.
Fig. 37. Microgamet mit Randsaum, maceriert.
Fig. 38 u. 39. Befruchtung.

Tafel XVII.

Fig. 40—71. *Plasmodium brasilianum.*

Fig. 40. Schizont, welcher indifferente Formen liefert.
Fig. 41 u. 42. Junge Schizonten.
Fig. 43—45. Bandförmige Schizonten.
Fig. 46—48. Amöboide Formen.
Fig. 49—58. Teilungsformen.
Fig. 59. Schizogonie, welche Gameten liefert.
Fig. 60—62. Junge, undifferenzierte Gameten.
Fig. 63 u. 64. Macrogametocyten.

Fig. 65. Macrogametocyt, dessen Caryosom aus dem Kern aufgestoßen ist.

Fig. 66. Halberwachsener Microgametocyt, dessen für die jüngsten Geschlechtsformen typische Kernform noch erkennbar ist.

Fig. 67—71. Microgametocyten.

Tafel XVIII.

Fig. 72—78. *Plasmodium malariae.*

Fig. 72. Schizogonie, welche die indifferente Generation liefert.

Fig. 73. Junger Schizont mit Nebenkern.

Fig. 74. Etwas ältere Form mit Nebenkern innerhalb der Kernmembran.

Fig. 75. Primitive Mitosen.

Fig. 76. Schizogonie, welche Gameten liefert.

Fig. 77. Junger Gamet.

Fig. 78. Reduktion eines jungen Gameten von Schizonten?

Fig. 79—81. *Plasmodium immaculatum.*

Fig. 79. Junger Schizont.

Fig. 80 u. 81. Junge Gameten.

Fig. 82 u. 83. *Plasmodium vivax.*

Fig. 82. Junge Schizonten.

Fig. 83. Junge Gameten.

Über *Nosema bombycis* Nägeli
nebst Bemerkungen über Mikrophotographie mit gewöhnlichem und ultraviolettem Licht.

Von
Prof. Dr. **W. Stempell** in Münster i. W.

(Hierzu Tafel XIX—XXV und 1 Textfigur.)

Inhaltsübersicht.

Einleitung.

Wenn unsere Kenntnisse vom Lebenscyclus der Myxosporidien und Microsporidien auch bisher nicht so gründliche sind, wie auf vielen anderen Gebieten der Protozoenforschung, so haben doch die letzten Jahre auch hier manche erfreuliche Aufklärung und besseres Verständnis gebracht. Um so auffallender muß es erscheinen, daß gerade eine so lange bekannte, häufige und als Erregerin der Pébrinekrankheit der Seidenraupe praktisch so wichtige Form wie *Nosema bombycis* Naegeli in der Neuzeit noch nicht Gegenstand einer gründlichen, alle Details des Baues und der Lebensweise umfassenden Untersuchung geworden ist. Denn wenn auch die Zahl der Arbeiten, welche über den Pébrinerreger geschrieben worden sind, reichlich groß ist, so ist doch das, was uns darin über die fraglichen Parasiten selbst mitgeteilt wird, äußerst wenig. Präzis beschrieben und abgebildet finden wir nur die äußere Form und Größe der Sporen, wir erfahren, daß aus ihnen mit Umständen ein „Amöboidkeim" und ein Polfaden hervortreten, und daß sie bei Neuinfektion anderer Raupen durch die Nahrung oder bei erblicher Übertragung durch die Eier eine Rolle spielen. Die Dürftigkeit dieser Angaben mag in erster Linie in den mannigfachen technischen Schwierigkeiten begründet sein, welche die Untersuchung so kleiner Organismen bietet. Wenn *Nosema bombycis* auch noch nicht zu den kleinsten Microsporidien gehört, so ist es doch immerhin kleiner als manche andere Form, z. B. die von mir früher (1904a und b) untersuchte *Glugea anomala*, und damit nähern sich die Einzelheiten seines Baues bereits bedenklich der Grenze optischer Wahrnehmbarkeit. Diese technischen Schwierigkeiten haben denn auch die Fertigstellung der vorliegenden Arbeit, welche bereits im Jahre 1905 von mir begonnen wurde, bis jetzt verzögert; ihnen bitte ich auch die mancherlei Lücken, welche die Darstellung hier und da aufweist, in die Schuhe schieben zu dürfen.

Historische Übersicht.

Die große Mehrzahl der überaus zahlreichen, über die Pébrineparasiten erschienenen Schriften bietet für die moderne Betrachtung des Themas, wie gesagt, nur ein sehr geringes Interesse. Reichen

schon unsere heutigen mikroskopischen Hilfsmittel knapp aus, um die Morphologie und Entwicklungsgeschichte dieser winzigen Parasiten aufzuklären, so waren mit den Untersuchungsmethoden früherer Zeiten exakte Feststellungen ganz unmöglich, und es blieb falschen Fragestellungen und haltlosen Spekulationen dafür der größte Spielraum. Viele Arbeiten scheiden auch deswegen für unsere Betrachtungsweise aus, weil sie sich nur mit der von den Parasiten erzeugten Krankheit der Seidenraupe, nicht aber mit den Parasiten selbst beschäftigen. Es bleibt somit nur eine relativ kleine Anzahl von Untersuchungen übrig, die unsere Kenntnis des Parasiten — und damit natürlich auch die praktischen Fortschritte zu seiner Bekämpfung — wirklich gefördert haben. Nur diese will ich hier kurz besprechen und mir Einzelcitate aus anderen für die spezielle Darstellung vorbehalten[1]).

Die ersten Untersucher (Lebert 1856—1857, Nägeli 1857 [gab den Namen], Leydig 1854, 1863, Cornalia 1860 u. a.) beschrieben im wesentlichen nur Form und Vorkommen der Sporen, die man später häufig als Cornalia'sche Körperchen oder Psorospermien bezeichnete. Sie stellten ferner die große Widerstandsfähigkeit derselben gegen verdünnte Säuren und Alkalien fest, glaubten, daß sie sich durch Zweiteilung vermehrten, und hielten sie meistens für pflanzliche Gebilde — eine Auffassung, der sich auch noch Bütschli in seinem Protozoenwerk (1880—1882 p. 615) anschloß, und die jedenfalls damals viel vernünftiger war, als die besonders von italienischen Forschern vertretene Ansicht, die betreffenden Körperchen wären überhaupt keine Organismen, sondern nur pathologische Produkte des Tierkörpers. Balbiani gebührt das große Verdienst, zuerst die von Leydig nur vermutete Verwandtschaft dieser Parasiten mit den anderen Sporozoen bewiesen zu haben, indem er ihre Entwicklung genauer, als es vorher geschehen war, erforschte und für sie sowie andere ähnliche Formen die Ordnung der *Microsporidia* aufstellte (1866, 1867a, 1867b u. a.; zusammengefaßt in den Schriften 1883 und 1884). Im Einzelnen wies er nach, daß die Sporen eine nicht zweiklappige Schale besitzen und konstruierte an der Hand von Infektionsversuchen einen Entwicklungscyclus. Da er die Sporen schon wenige Tage nach der künstlichen Infektion in den Darmepithelzellen fand, so nahm er an, daß sie aktiv aus dem Darmlumen in dieselben ein-

[1]) Eine Aufzählung der wichtigeren Literatur und der Synonyma findet man bei Labbé (1899, p. 106 u. 107). Listen der älteren Arbeiten haben auch Pasteur (1870) und Thélohan (1895) zusammengestellt.

drängen. Er hatte ferner die wichtige Entdeckung gemacht, daß durch eine Öffnung am einen Pol der Spore unter Umständen ein kleiner, amöboid beweglicher Protoplasmakörper hervortritt, und außerdem hatte er in der Darmmuskulatur bald nach der Infektion „des petites masses sarcodiques, de volume très variable, ordinairement allongées dans la direction des fibres longitudinales“ gesehen. Er verknüpfte nun diese Beobachtungen in der Weise, daß er annahm, diese kleinen Körper wären nichts anderes als die Amöboidkeime, welche die in das Epithel eingewanderten Sporen verlassen hätten. Nach Analogie der übrigen Myxosporidien nahm er an, daß sie dann im Gewebe zu größeren „masses sarcodiques“ heranwüchsen, die wieder in ihrem Innern die Sporen erzeugten. Diese sollten dann weiterhin Sarcodekörper aus sich hervorgehen lassen und so schließlich alle Gewebe des Wirtes infizieren. Zu wesentlich anderen Resultaten war Pasteur (1867, 1870 u. a.) gekommen. Er hielt die mit stark lichtbrechender Hülle versehenen Sporen, welche er „organites“ nannte und mit den roten Blutkörperchen der Wirbeltiere verglich, für Gebilde, die einer weiteren Entwicklung im allgemeinen nicht fähig seien. Vor ihnen unterschied er die — übrigens auch schon von früheren Beobachtern gesehenen — hellen, nicht glänzenden, teils rund, teils birnförmig gestalteten „cellules“ und „corpuscules piriformes“, von denen er annahm, daß sie sich vermehren könnten, indem aus den in ihnen gelegenen „granulins“ oder „nucleoles“ jene stark lichtbrechenden Sporen hervorgingen. Indem Pasteur die von ihm exakt festgestellte Tatsache, daß die Krankheit durch infizierte Eier auf die nächste Generation übertragen werden kann, zur Grundlage des alle kranken Eier von der Nachzucht ausschließenden Systems der sog. Zellengrainierung machte, hat er sich unsterbliche Verdienste um die durch die Pébrine in ihrem Bestande bedrohte, europäische Seidenzucht erworben; seine oben dargelegten Ansichten über den Entwicklungscyclus der Parasiten sind aber, wie wir sehen werden, noch weiter als diejenigen Balbiani's von der Wahrheit entfernt. Beide Forscher haben zwar einige Entwicklungsstadien gesehen und wertvolle Beobachtungen gemacht, aber das Gesehene reichte doch bei weitem nicht aus, um zu einer richtigen Vorstellung des gesamten Entwicklungscyclus zu gelangen, zumal jenen beiden Forschern über die beiden Hauptbestandteile der Parasiten, ihre Kerne und ihr Protoplasma, gar nichts bekannt war. Nach Balbiani und Pasteur haben sich dann L. Pfeiffer (1888, 1891 und 1895) und Thélohan (1895) eingehender mit den Pébrine-Parasiten beschäftigt, ohne aber unsere Kenntnisse wesentlich zu

erweitern. Allerdings gelang es Thélohan (l. c. p. 265, 358 Fig. 145), mittels Salpetersäure die Polkapsel sichtbar zu machen und den Austritt des Polfadens zu erreichen und damit die systematische Stellung unserer Form sicher zu stellen, und L. Pfeiffer konnte (1888, 1891 p. 139 Fig. 39 H) die Angaben Balbiani's über das Auskriechen des Amöboidkeimes und andere bestätigen; aber keiner von ihnen vermochte zu klareren Vorstellungen über die Morphologie und Entwicklungsweise zu gelangen.

Weitere Aufklärungen sollten auch hier wie bei so manchen anderen parasitären Protozoen erst auf einem Umwege erreicht werden. Im Jahre 1901 untersuchte ich ein Microsporid der Gattung *Thélohania*, das in *Gammarus pulex* stellenweise häufig vorkommt, und konnte an diesem günstigen Material feststellen, daß die Sporen Dauerformen sind, welche allein bei der Neuinfektion anderer Wirte eine Rolle spielen, indem ihr als Geschlechtsgeneration aufzufassender Protoplasmainhalt erst im Darmlumen des neuen Wirtes die Sporenhülle verläßt, daß sie sich also niemals innerhalb des ersten Wirtes, in dem sie entstanden sind, vermehren. Vielmehr wird diese Vermehrung der Parasiten in dem einmal befallenen Wirt durch ganz anders gestaltete, rein vegetative Zellen besorgt, die ich als Meronten bezeichnete, weil sie meistens im Zustande der Zweiteilung oder Knospung angetroffen werden. Erst wenn in dem befallenen Gewebe Nahrungs- oder Platzmangel eintritt, verwandeln sich diese Meronten in Sporen. Mit Hilfe der neueren Untersuchungsmethoden konnte ich ferner den zellularen Bau aller Stadien genügend aufklären und zeigen, daß sie alle einkernig sind, mit Ausnahme der reifen Sporen, welche außer der Polkapsel noch einen erst zweikernigen und schließlich vierkernigen Protoplasmakörper enthalten. (cf. meine Arbeiten 1901 und 1902). Nachdem damit die Microsporidienforschung auf die der neueren Protozoenkunde allein entsprechende zellulare Basis gestellt worden war, sind andere Microsporidienarten von ähnlichen Gesichtspunkten aus untersucht worden, und mehrere Forscher (Pérez 1904, 1905 a, 1905 c, Hesse 1904 b, Perrin 1906 b, Schröder 1909 u. a.) haben hier teilweise ganz gleiche oder ähnliche Entwicklungsmodi gefunden; meine eigenen Studien an *Glugea anomala* (1904 a u. b) lehrten mich dagegen bei dieser Species einen neuen Typus der Microsporidienentwicklung kennen, der mit dem den *Thélohania*-Arten eigentümlichen nur sehr wenig gemeinsam hat. Trotzdem man *Nosema bombycis* mit *Glugea anomala* in einer Gattung vereinigt hatte (Labbé 1899), sprachen doch manche Angaben der älteren Forscher dafür, daß bei den Pébrineparasiten

die Entwicklung nicht wie bei *Glugea anomala*, sondern etwa ähnlich wie bei *Thélohania* verliefe, und es hat sich Mesnil nach einer Mitteilung von Pérez (1905a p. 147, 1905c p. 16) auch nach dem Erscheinen meiner *Thélohania*-Arbeit in diesem Sinne geäußert[1]), scheint aber nicht zu klaren Resultaten gelangt zu sein. Auch Léger und Hesse sprechen in einer ganz kurzen Zusatznote zu ihrer Arbeit über Coccomyxa (1907, p. 6) von „sporoblastes monosporés" des *Nosema bombycis*, scheinen also ebenfalls die Meronten gesehen zu haben. Gleichzeitig erklären diese Autoren, in den Sporen „cellules valvaires et cellule capsulogène" gesehen zu haben, ohne aber diese Angabe, die mit manchen anderen neueren Befunden an Myxosporidien- und Microsporidiensporen (Mercier 1908, Schröder 1909) übereinstimmt, genauer zu belegen. Im Jahre 1907 (a) erschien auch meine erste vorläufige Mitteilung über das vorliegende Thema, welche kurz darlegte, daß der Entwicklungscyclus bei *Nosema bombycis* in der Tat dem von *Thélohania* sehr ähnlich ist. Im Jahre 1909 folgten dieser Mitteilung zwei weitere, deren eine (a) sich ausschließlich mit der mikrophotographischen Erforschung der Spore und einigen daraus zu ziehenden physikalisch-chemischen Folgerungen beschäftigt, während die andere (b) weitere Nachrichten über die jüngsten, im Darminhalt und im Blut der Raupe lebenden Stadien, die sog. Planonten, enthält und darin wie in mehreren anderen Punkten das Bild des Entwicklungscyclus vervollständigt.

Material und Untersuchungsmethoden, Mikrophotographisches.

Nach längeren vergeblichen Bemühungen erhielt ich zuerst im Jahre 1903 durch die dankenswerte Freundlichkeit des Herrn Prof. Mesnil-Paris und etwas später auch von Herrn Prof. Köhler-Lyon Material von Pébrine-kranken Seidenraupen, das teils in Flemming'scher Flüssigkeit, teils im heißem Sublimatalkohol konserviert war. Außerdem war Herr Physikus Dr. E. Pfeiffer (Hamburg-Uhlenhorst) so liebenswürdig, mir einige mit Karbolfuchsin gefärbte Schnitte durch infizierte Raupen von *Attacus Pernyi* zur

[1]) Auch in einem Privatbrief an mich vom 6. Nov. 1903 spricht er eine ähnliche Vermutung aus.

Verfügung zu stellen, welche aus dem früher von seinem Vater, L. Pfeiffer, (1895 p. 51) untersuchten Nordhausener Material stammten. So gute Dienste mir alles dieses Material bei der späteren Untersuchung geleistet hat, so erkannte ich doch sehr bald, daß ohne Infektionsversuche mit lebendem Material eine gründliche Erforschung des gesamten Lebenscyclus der Parasiten unmöglich ist, und ich bin daher dem Direktor der k. k. landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation in Görz, Herrn J. Bolle zu allergrößtem Danke dafür verpflichtet, daß er mich in freigebigster Weise mit lebenden, erkrankten Seidenspinner-Eiern, Raupen, Puppen und Schmetterlingen versah. Erst diese reichen Sendungen, und anderes lebende, gesunde und infizierte Material, das ich der Freundlichkeit des Herrn Prof. Vaney-Lyon und meines Freundes Martin Holtz, Rodaun b. Wien, verdanke, gaben mir die Möglichkeit, die zur Klärung des Sachverhaltes unbedingt nötigen, künstlichen Infektionsversuche selbst vorzunehmen.

Solche habe ich denn auch teilweise in Greifswald, teilweise in Münster i. W. in ausgiebiger Weise angestellt und werde über die Ergebnisse weiter unten berichten; hier sei über die Technik nur kurz folgendes bemerkt. Es wurden stark mit Pébrine infizierte, lebende oder kurz vorher daran gestorbene Seidenspinnerraupen mit etwas Wasser in kleinste Stückchen zerzupft und so zu einem zahlreiche Sporen enthaltenden Brei verarbeitet. Mit diesem wurden dann zerschnittene Knospen und junge Blätter des Maulbeerbaums bestrichen, etwas getrocknet und sofort an junge, gesunde Seidenraupen von ca. 1 cm Länge verfüttert, welche sie meistens — wenn auch etwas zögernd — annahmen. Die Infektion wurde dann in derselben Weise bei jeder folgenden Fütterung während der nächsten Tage wiederholt. Die Züchtung der Seidenraupen[1]) machte in Greifswald anfangs einige Schwierigkeiten, da dort die Knospen des Maulbeerbaums erst Ende Mai aufbrachen, und daher nicht leicht eine genügende Menge von Futter zu beschaffen war. Auch lag es nicht in meiner Macht, den Zeitpunkt des Auskriechens der jungen Raupen durch Kühlhalten der Eier hinauszuschieben, da die mir aus Frankreich und Österreich zugehenden Eier meist durch die Erschütterung der Reise schon zum Ausschlüpfen gebracht worden waren. Als ich versuchte, die jungen Raupen mit den Blättern der in Pommern häufig angebauten Schwarzwurzel

[1]) Zur Orientierung darüber seien außer der älteren Schrift von Haberlandt (1871) besonders die neueren Anleitungen von Bolle (1899 u. 1908) empfohlen.

(*Scorzonera hispanica*) zu ernähren, nahmen sie zwar dieses Futter an, wuchsen aber für eine gedeihliche Zucht etwas zu langsam heran. Am besten gelang es mir noch, die Schwierigkeiten der Fütterung zu überwinden, wenn ich Raupen der zweiten Generation einer sogenannten Bivoltinrasse benutzte, da diese in einer Zeit ausschlüpften, wo auch in Pommern der Maulbeerbaum vollen Blätterschmuck trägt. Wenn es bei Benutzung dieser Methoden auch möglich war, manches brauchbare und wertvolle Untersuchungsmaterial zu erhalten, so war dasselbe aber doch noch nicht reichlich genug. Eine genügende Menge davon erhielt ich erst, als ich an Stelle der Seidenraupe die viel widerstandsfähigere und für die Pébrine ebenso empfängliche Raupe des Bärenspinners (*Arctia caja*) für die Versuche benutzte. Etwa 5 Tage alte Raupen dieser Art wurden auf Blätter des gemeinen Löwenzahns (*Taraxacum officinale*) gesetzt, welche dick mit angetrocknetem, sporenhaltigen Seidenraupenbrei überstrichen waren, und da sie dieses Futter trotz des ihm anhaftenden üblen Geruchs begierig fraßen, so gelang es leicht, sie in ausgiebigster Weise zu infizieren.

Außer frisch infizierten jungen Raupen habe ich natürlich auch ältere Raupen mit vorgeschrittneren Krankheitsstadien sowie infizierte Puppen, Schmetterlinge, unbefruchtete und befruchtete Eier von *Bombyx mori* untersucht. Indem ich ferner befruchtete Eier Pébrine-kranker Schmetterlingsweibchen im nächsten Jahre zum Ausschlüpfen brachte, konnten auch noch einige Feststellungen über das Verhalten der Parasiten während der Entwicklung des Embryos und nach Abschluß derselben gemacht werden.

Sämtliches Material wurde möglichst in frischem sowie konserviertem Zustande an Deckglasausstrichen und Schnitten untersucht. Bei den Infektionsversuchen wurde zum erstenmal etwa 6 Stunden nach der ersten Infektion und dann weiter mit ungefähr 24stündigen Intervallen der Darmkanal einzelner Raupen nach Abschneiden des vorderen und hinteren Körperendes herausgezogen, auf einem Objektträger schnell zerzupft und ohne Zusatz weiterer Flüssigkeit unter einem Deckglas bei starker Vergrößerung untersucht. Außerdem wurden jedesmal einige derartige Deckglasausstriche sowie ganze oder in zwei Hälften zerschnittene Raupen in heißem Sublimatalkohol (2 Teile kaltgesättigter Sublimatlösung, 1 Teil Alkohol 96% und eine Spur Eisessig) fixiert, dann in Jodalkohol ausgewaschen und in 96% Alkohol aufbewahrt.[1]) In derselben Weise wurden

[1]) Vgl. dazu das in meiner Arbeit unter *Thélohania mülleri* Gesagte (1902, p. 239).

auch die infizierten Puppen, Schmetterlinge und Eier der verschiedenen Stadien behandelt.

Zur Färbung der konservierten Deckglasausstriche und der Schnitte, deren Dicke 2 μ nicht erheblich übersteigen darf, verwandte ich in erster Linie Giemsa-Gemisch (Giemsa 1902 a, p. 429, 430; 1902 b, p. 307—313). Wenn Lee und Mayer (1907, p. 212) sowie Lühe in dem vortrefflichen, von ihm und Braun neuerdings herausgegebenen „Leitfaden zur Untersuchung der tierischen Parasiten" (1909, p. 12) sagen, daß die Kernfärbung der Giemsa-Präparate durch nachfolgende Alkoholbehandlung vernichtet werde, so kann ich dem nicht unbedingt zustimmen. Allerdings sind auch mir viele derartige Färbungen mißlungen, aber bei einer kleinen Anzahl ist doch — aus mir bisher leider unbekannten Gründen [1] — die rubinrote Kernfärbung trotz Alkoholnachbehandlung prächtig erhalten geblieben (vgl. die Farbenphotogramme Fig. 12—14!), und derartige Präparate entschädigten um so mehr für alle vergebliche Mühe, als gerade für Microsporidienstudien Giemsa's Färbung kaum zu entbehren ist. Auf jeden Fall ist anzuraten, die Giemsa'sche Farbmischung recht lange Zeit — bis 4 Tage — auf die Präparate einwirken zu lassen, ferner die — bei Microsporidien leider unvermeidliche — Alkoholbehandlung auf ein Minimum zu reduzieren (s. meine Angaben 1902 p. 239, 240) und als Intermedium zwischen absolutem Alkohol und Kanadabalsam Xylol zu nehmen. Besonders ist allerkürzeste Alkoholbehandlung geboten, wenn es sich um Kernfärbung der nackten Stadien handelt, da aus diesen der rote Farbstoff viel schneller ausgezogen wird als aus den beschalten Sporen, die je nach der Dicke ihrer Hülle eine verschieden lange Alkoholbehandlung gestatten. Launisch bleibt die Giemsa-Färbung mit nachfolgender Alkoholbehandlung auf alle Fälle, und da man es häufig erlebt, daß die gleichen Elemente in verschiedenen Präparaten ganz verschieden gefärbt werden, [2] so muß bei der Beurteilung der mit ihr hergestellten Präparate stets sorgfältigste Kritik geübt werden.

[1]) Ich will nicht unterlassen, hier darauf hinzuweisen, daß neuerdings Krassilstschick (1909, p. 6—9) eine Methode angegeben hat, welche gestatten soll, mit Sicherheit die üble Wirkung der Alkoholnachbehandlung bei Giemsa-Präparaten zu vermeiden. Ich habe zwar noch keine Gelegenheit gehabt, diese Methode nachzuprüfen, doch kann ich weder aus den Worten Krassilstschick's noch aus seinen Abbildungen (Taf. 1 u. 2) die Überzeugung gewinnen, daß ihm wirklich die charakteristische rubinrote Kernfärbung bei seinen Parasiten geglückt ist.

[2]) Man vergleiche z. B. Fig. 15 mit Fig. 16 und Fig. 25 mit Fig. 34. In Fig. 25 ist der Kern rot und das Protoplasma blau, in Fig. 34 ist es gerade umgekehrt!

Ist sie aber wirklich gelungen, wird ihr Effekt von keiner anderen Färbung erreicht. Zwar kann man auch mit Delafield'schem Hämatoxylin leidlich gute Bilder erhalten, wenn man bei Ausstrichen einfach überfärbt und bei Schnitten nach der Überfärbung für genügende Differenzierung durch Salzsäure-Alkohol und Bläuung durch Ammoniak-Alkohol sorgt; aber die scharfe färberische Scheidung von Protoplasma und Chromatin, welche die Giemsa-Färbung gewährt, ist doch niemals zu erzielen (vgl. z. B. Fig. 24—26 mit 30—33). Für die Untersuchung der kleinsten Stadien ist es vorteilhaft, sehr stark mit Hämatoxylin zu überfärben und dann bei sogenannter maximaler Beleuchtung, d. h. unter voller Ausnutzung der Apertur des Systems mittels Immersionskondensor, zu untersuchen: es lassen sich dann in den winzigsten Amöboidkeimen, Planonten und Meronten oft noch Strukturen wahrnehmen, die bei gewöhnlicher Färbung und Beleuchtung vollkommen verloren gehen. Die Mallory'sche Färbung, welche Schröder (1906, p. 186, 187; 1907, p. 361) und Lühe (1909, p. 12) für Myxosporidien empfehlen, färbt bei *Nosema bombycis* die jungen Sporen blau, die reifen dagegen grell orangegelb und gibt dadurch ein Mittel an die Hand, junge Sporen von alten schnell zu unterscheiden, sowie vereinzelte Sporen in schwierigen Fällen, z. B. im Darminhalt nach Infektionsversuchen, leicht aufzufinden; für das Studium feinerer Einzelheiten eignet sie sich hier aber nicht. Auch die Färbung mit 1% wässeriger Bismarckbraunlösung, die ich bei meiner Arbeit über *Glugea anomala* (1904 b, p. 4) mit Erfolg zur Kernfärbung der reifen Sporen verwandt hatte, leistet hier nicht die gewünschten Dienste. Dagegen liefert Karbolfuchsin ein sehr gutes Sporenkernfärbungsmittel, und es heben sich die damit gefärbten Parasitenmassen sehr schön gegen das Wirtsgewebe ab, wie ich aus einigen so gefärbten Schnitten durch kranke Raupen von *Attacus Pernyi* (Pfeiffer'sches Material; s. o.) ersehe.

Als Untersuchungsobjektiv diente für die meisten Fälle die Zeiss'sche Apochromat-Ölimmersion (Brennw. 2 mm, imm. Apert. 1,30) in Verbindung mit dem Kompensationsocular 18. Künstliches Licht und zwar Gasglühlicht ist bei derartigen Untersuchungen dem Tageslicht entschieden vorzuziehen. Wenn zwischen Lichtquelle und Mikroskop eine Sammellinse so aufgestellt wird, daß sie auf dem Spiegel des Mikroskops ein Bild der Lichtquelle entwirft, läßt sich selbst bei Anwendung der genannten, starken Linsenkombination stets eine vollkommen ausreichende Helligkeit des Gesichtsfeldes erzielen. Die feineren, nicht färbbaren Einzelheiten der Sporen wurden durch Mikrophotographie mit ultraviolettem Licht ermittelt (s. u.).

Alle Zeichnungen sind mit Hilfe des Abbé'schen Zeichenapparates auf einer etwa 1 cm den Objekttisch überragenden Zeichenfläche hergestellt worden, wobei sich unter Benutzung der oben genannten Linsenkombination eine Vergrößerung von 2200 : 1 ergibt. Die Wiedergabe der Dauerpräparate geschah möglichst mit denselben Farben, die zur Färbung der Präparate gedient hatten.

Photographisches. Um eine möglichst objektive Darstellung des Gesehenen geben zu können, habe ich der photographischen Reproduktion neben den Zeichnungen einen erheblichen Platz eingeräumt. Da zum Teil neue oder noch wenig angewandte Methoden hierbei Verwendung fanden, dürfte es angebracht sein, etwas näher darauf einzugehen.

Fig. 1—5 sind Aufnahmen bei gewöhnlichem Licht. Mit Ausnahme der Fig. 1, welche bei auffallendem Licht und in Lupenvergrößerung (6 : 1) mittels des Zeiss'schen Mikroplanare (Serie I a Nr. 4 Brennweite 75 mm) hergestellt wurde, handelt es sich dabei um Mikrophotogramme bei durchfallendem Licht. Als Aufnahmeapparat diente ein von mir konstruierter, großer wagerechter Apparat, der im wesentlichen nach denselben Prinzipien gebaut war wie der große mikrophotographische Apparat der Firma Carl Zeiss, als Lichtquelle ein Kalklicht-Sicherheitsbrenner oder eine Handregulier-Bogenlampe, welche mit einer konstanten Stromstärke von 5 Ampères betrieben wurde. Beide Lichtquellen haben eine konstante Lichtstärke, ermöglichen selbst bei starken Vergrößerungen eine relativ kurze Expositionszeit und lassen wegen ihrer geringen Ausdehnung die peinlich genaue Regulierung des Strahlenganges zu, die für feinere mikrophotographische Arbeiten nun einmal nicht zu entbehren ist.[1]) Für alle diejenigen Fälle mittlerer und stärkerer Vergrößerung, wo das Objektiv in Verbindung mit einem Okular verwendet wird — und nur solche kamen für vorliegende Arbeit in Betracht [2]) —, erreicht man den richtigen Strahlengang praktisch am einfachsten folgendermaßen: Man stellt den auf der optischen Bank verschiebbaren großen Einlinsenteil (Hilfskondensor), der die vom Zweilinsenteil parallel gemachten Strahlen wieder zu einem Bild der

---

[1]) Eine ausgedehntere Lichtquelle, wie z. B. Gasglühlicht und eine einfachere mikrophotographische Kamera, etwa eine Vertikalkamera, welche eine derartige peinlich genaue Regulierung nicht gestatten, mögen einfacheren mikrophotographischen Aufgaben wohl gewachsen sein; in den schwierigeren Fällen werden sie aber niemals allen Anforderungen genügen.

[2]) Für andere Fälle sei auf die gebräuchlichen Lehrbücher der Mikrophotographie (z. B. Kaiserling 1903) verwiesen.

Lichtquelle vereinigt, so auf, daß dieses Bild auf der Irisblende des Abbé'schen Beleuchtungsapparates liegt. Darauf rückt man die große Irisblende (Sehfeldblende), die sich auf der optischen Bank zwischen Mikroskop und Einlinsenteil befindet, so nahe wie möglich an letzteren heran, setzt in den Abbé'schen Beleuchtungsapparat statt des gewöhnlichen Kondensors einen zentrierbaren, achromatischen Kondensor (Zeiss) ein, zieht darauf die große Irisblende fast ganz zu und stellt den Abbé'schen Beleuchtungapparat mittels des an ihm angebrachten Triebes so ein, daß die kleine Öffnung der großen Irisblende scharf in der Ebene des vorher eingestellten Präparates abgebildet wird. Sodann bringt man dieses Blendenbild mittels der Zentrierschrauben des achromatischen Kondensors genau in die Mitte des Gesichtsfeldes und öffnet die Blende schließlich so weit, daß sie gerade das mikroskopische Gesichtsfeld frei läßt. Man erhält so — richtige Zentrierung der Hauptteile des Apparates vorausgesetzt — ein gleichmäßig beleuchtetes Gesichtsfeld und vermeidet alles störende, im Photogramm Schleierbildung verursachende Nebenlicht. Nunmehr zieht man das Ocular aus dem Tubus heraus, blickt in den Tubus hinein und zieht die Irisblende des achromatischen Kondensors (Aperturblende) so weit zu, daß nur etwa das mittlere Drittel der obersten Objektivlinse hell beleuchtet erscheint, mit anderen Worten, man schränkt die Apertur des benutzten Objektivs auf ein Drittel ihres Betrages ein und erreicht dadurch genügende Tiefenzeichnung und größere Gegensätzlichkeit ungefärbter Strukturen.[1]) Als Objektive benutzt man am besten Apochromate (s. Figurenerklärung). Nach diesen Vorbereitungen schiebt man das Ocular wieder in den Tubus und zwar wählt man immer dann, wenn es sich um scharfe Abbildung eines möglichst großen Gesichtsfeldes handelt, lieber ein stärkeres Kompensationsocular und kleine Kameralänge, als ein schwaches Projektionsocular und große Kameralänge. Endlich macht man nach genauer Einstellung auf der durchsichtigen Einstellscheibe die Aufnahme. Für diese benutze ich seit mehreren Jahren fast ausschließlich eine von der Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation in Berlin auf meinen Wunsch hergestellte

[1]) Nur wenn es sich darum handelt, Farbenkontraste oder dünne „optische Schnitte“ photographisch wiederzugeben, wenn also Unterschiede im Lichtbrechungsvermögen und Tiefe vernachlässigt werden können oder sogar müssen, wie z. B. bei dünnen Ausstrichpräparaten stark gefärbter Mikroorganismen, soll man die ganze Apertur des Systems ausnutzen und darf dann nicht vergessen, bei Benutzung von Ölimmersionen auch zwischen Kondensor und Objektträger einen Tropfen Cedernholzöl zu bringen.

„Spezialplatte für Mikrophotographie".[1]) Es ist dies im wesentlichen eine orthochromatische Chlorbromsilbergelatine-(Diapositiv-)Platte. Die Orthochromasie ist nötig, weil es bei Aufnahmen vieler gefärbter Präparate bekanntlich von Vorteil ist, ein gelbgrünes Lichtfilter in den Gang der Strahlen einzuschalten. Die genannte Plattensorte besitzt gerade für die Zwecke der Mikrophotographie recht erhebliche Vorzüge vor den gewöhnlichen Bromsilberplatten. Zwar ist sie etwas weniger empfindlich als diese, hat aber dafür ein viel feineres Korn und bleibt selbst bei starker Überexposition an den wenig oder gar nicht belichteten Stellen glasklar, erlaubt also, selbst wenig kontrastreiche Präparate gut wiederzugeben.[2]) Alle Platten werden dann mittels des Uranverstärkers[3]) verstärkt und auf Bromsilberpapier — ich benutze stets Veloxpapier (Karbon) — kopiert. Man erhält durch dieses Verfahren die Möglichkeit, durch längere oder kürzere Belichtung der Kopie jeden für den Einzelfall gerade erwünschten Grad von Gegensätzlichkeit oder Weichheit zu verleihen, ohne bei dem feinen Korn der Aufnahmeplatte fürchten zu müssen, daß Einzelheiten durch die Verstärkung verloren gehen.

Außer gewöhnlichen mikrophotographischen Aufnahmen habe ich ferner solche in den Farben der Präparate mittels der Lumière-schen Autochromplatten gemacht. Da ich über die Verwendbarkeit dieser Platten bereits an anderer Stelle berichtet habe (1907 b), so genügt hier der Hinweis, daß die allgemeine Anordnung des Apparates dieselbe war, wie bei Aufnahmen auf gewöhnlichen Platten. Außer dem von mir (l. c.) beschriebenen Jodgrün-Gentianaviolett-Lichtfilter habe ich noch ein inzwischen von der Firma Lumière fabriziertes und mir freundlichst zur Verfügung gestelltes Speziallichtfilter für Bogenlicht angewendet, das ebenfalls eine richtige Farbenwiedergabe ermöglicht und vor der Kombination des Lumière'schen Sonnenlichtfilters mit dem von mir beschriebenen Lichtfilter den Vorzug hat, daß es weniger Licht absorbiert und daher etwa um ein Drittel kürzere Expositionszeiten gestattet. Immerhin steigen dieselben bei den starken von mir angewandten Vergrößerungen von 1600 : 1 auf 25 Minuten, doch muß das mit in den Kauf genommen werden, da die Resultate recht gute sind, und

---

[1]) Vorläufig ist diese Platte von der Gesellschaft noch nicht in den Handel gebracht, doch wird sie auf speziellen Wunsch geliefert.

[2]) Als Entwickler benutze ich für diese Platten stets die Glycinlösung der A. G. f. A.

[3]) Das Rezept findet man in allen größeren Lehrbüchern der Photographie, z. B. bei Kaiserling 1903, p. 146.

die Genauigkeit, mit der die Farbentöne der Giemsa'-Färbung wiedergegeben werden, kaum etwas zu wünschen übrig läßt (cf. Fig. 12—14). Dringend gewarnt muß übrigens vor dem Gebrauch nicht ganz frischer Autochromplatten werden, da nach meinen Erfahrungen schon solche, welche etwa ein Jahr alt sind, bei der Entwicklung einen sehr starken Schleier bekommen.

Dienten die bisher besprochenen mikrophotographischen Methoden lediglich dazu, das Gesehene naturgetreu zu reproduzieren, so hat mir die ebenfalls von mir angewandte Mikrophotographie mit ultraviolettem Licht wertvolle Aufschlüsse über die Struktur der Sporen gegeben, die durch subjektive Beobachtung nie zu erhalten gewesen wären. Gerade bei einem Objekt wie der Microsporidienspore, deren Details die Grenze der mikroskopischen Sichtbarkeit teilweise überschreiten, lag es ja sehr nahe, die von A. Köhler (1904) ausgearbeitete Methode der Mikrophotographie bei ultraviolettem Licht auf ihre praktische Brauchbarkeit hin zu prüfen, und sie hat sich auch hier wie schon in manchen anderen Fällen [1]) als ein sehr wertvolles Forschungsmittel bewährt. Da der Aufnahmeapparat und die Technik in der oben citierten Schrift von Köhler genügend ausführlich beschrieben worden sind, kann ich mich hier auf einige spezielle Bemerkungen beschränken. Da es sich bei dem vorliegenden Objekt um Auflösung feinster Details handelte, kamen nur Aufnamen bei stärkster Vergrößerung mit der Monochromat-Glycerinimmersion (1,7 mm, r. A. = 2,50) in Betracht. Schon vor mehreren Jahren hatte ich Versuche mit in Formalin konservierten Sporen der *Glugea anomala* angestellt. Dieselben wurden ungefärbt mit etwas Glycerin in möglichst dünner Schicht zwischen Quarzobjektträger und Deckglas ausgebreitet. Die Schicht muß so dünn sein, daß die sehr kleinen Sporen keine Molekularbewegung mehr zeigen, denn diese würde ja eine mikrophotographische Aufnahme unmöglich machen. Man erreicht das am leichtesten, wenn man die Untersuchungsflüssigkeit so knapp bemißt, daß sie den Raum zwischen Objektträger und Deckglas nicht ganz auszufüllen vermag; es genügt dann ein relativ schwacher Druck, um alle Sporen festzulegen. Die so ausgebreiteten Sporen wurden dann bei dem Licht der Cadmiumlinie ($\lambda = 0{,}275\ \mu$) unter Benutzung des genannten Monochromaten, des Quarzoculars 10 und des vierfachen Quarzkondensors (Blende 6 mm) bei 1800facher Vergrößerung photographiert. Trotzdem sie nicht gefärbt waren, tritt an den Sporen

[1]) Vgl. das von der Firma Zeiß (Jena) hierüber ausgegebene Literaturverzeichnis.

doch sehr schön die Form des Sporenprotoplasmas zutage und es sind auch bereits ganz schwache Andeutungen des spiralig eingerollten Polfadens zu sehen (Fig. 6). Da bei einem derartigen Aufnahmeverfahren nun an den schwieriger zu untersuchenden Sporen von *Nosema bombycis* keine Strukturen zu erkennen waren, ging ich hier zunächst zu erheblich stärkeren Vergrößerungen über, indem ich mit der Glycerinimmersion das stärkste Quarzocular Nr. 20 kombinierte, was bei einer optischen Kameralänge von 31 cm eine 3600 fache Vergrößerung ergab. Die Präparate wurden von den in heißem Sublimatalkohol konservierten Sporen in der oben beschriebenen Weise hergestellt. Da es auf möglichste Bildtiefe und Abbildung von Strukturen ankam, die nur durch Unterschiede im Lichtbrechungsvermögen erkennbar werden konnten, habe ich nach anfänglichen Mißerfolgen mit ganz geöffneter Quarzkondensorblende diese schließlich bis auf 3 mm zugezogen. Allerdings wurde dadurch wieder die Helligkeit des Bildes auf der Fluorescenzscheibe des Suchers so bedeutend verringert, daß eine subjektive Einstellung mit Ocular 20 unmöglich wurde. Ich half mir dadurch, daß ich zunächst mit Quarzocular 5 und dem Sucher, so gut es ging, einstellte, darauf dieses Ocular gegen Nr. 20 vertauschte, dann mittels der Schiebekasette zahlreiche Serienaufnahmen machte und so die schärfste Einstellung ermittelte. Nachdem ich etwa 70 derartige Aufnahmen gemacht hatte, erhielt ich endlich Bilder, welche, wenn auch sozusagen schematisch, doch deutlich den in verhältnismäßig wenig Spiraltouren innerhalb der Spore verlaufenden Polfaden zeigten (Fig. 7). Da dies stets solche Sporen waren, deren Längsachse nicht genau in der Objektebene lag, sondern etwas schräg gegen dieselbe geneigt war, ging ich dazu über, die Versuche mit schiefer Beleuchtung fortzusetzen, von deren Anwendung ja auch aus theoretischen Gründen eine weitergehende Auflösung der Strukturen zu erwarten war. Als Einschlußmittel verwandte ich bei diesen Versuchen nicht Glycerin, sondern verdünnte Salpetersäure, welche bei gleichem Lichtbrechungsvermögen den Vorzug hat, daß sie die Sporen etwas durchsichtiger macht. Zur Erzielung möglichst schiefer Beleuchtung bei vollkommen ausgenutzter Apertur des Systems wurde oberhalb der ganz geöffneten Irisblende des Quarzkondensors, die sich an dem Zeiss'schen Apparat leider nicht seitlich verschieben läßt, eine aus schwarzem Karton hergestellte Blende eingelegt, deren 4 mm betragende Öffnung so weit exzentrisch gelegen war, daß ihr Außenrand gerade den Rand der Irisblendenöffnung berührte, und ferner wurde zwischen die Frontlinse des vierfachen Quarzkondensors und

den Quarzobjektträger ein Tropfen des auch zur Immersion verwendeten Glycerins gebracht ($^{n}D = 1{,}448$). Natürlich gestaltete sich bei einer derartigen Anordnung die Einstellung noch viel schwieriger als bei zentraler Beleuchtung; es mußten zahlreiche Serienaufnahmen gemacht werden, und die starken Lichtverluste nötigten dazu, die Expositionszeit bis auf 2 Minuten zu steigern; aber der Erfolg belohnte doch schließlich alle Mühe. Wie auch nach der theoretischen Berechnung zu erwarten war, zeigten nämlich alle diejenigen Sporen, welche so gelegen waren, daß das schiefe Licht parallel zur Sporenlängsachse, also senkrecht zu den aufzulösenden Spiraltouren einfiel, in der Tat eine deutliche Abbildung des spiralig eingerollten Polfadens. Um hinsichtlich der Lage der Sporen nicht ganz vom Zufall abhängig zu sein, hatte ich eine annähernd gleichsinnige Lagerung der Sporen eines Präparates dadurch erreicht, daß ich das fest angepreßte Deckglas um einen kleinen Betrag seitlich verschob; es stellten sich dann die meisten Sporen in eine Richtung ein, die makroskopisch auf dem Objektträger vermerkt und als Anhaltspunkt für die den schiefen Strahlen zu gebende Richtung benutzt werden konnte. So sind schließlich Aufnahmen wie die in Fig. 8—10 wiedergegebenen entstanden, in denen fast sämtliche Sporen den Polfaden zeigen. Es sei noch bemerkt, daß zu allen diesen Aufnahmen sogenannte Extra-Rapidplatten der Aktien-Gesellschaft für Anilin-Fabrikation, Berlin, verwendet worden sind, die sämtlich mittels des Uranverstärkers verstärkt wurden. Auf die theoretische Seite dieser Versuche und auf einige interessante sich daraus ergebende Folgerungen werde ich weiter unten in dem Kapitel „Sporen“ noch näher eingehen. Leider wird die Verwendbarkeit des schönen Köhler'schen Apparates dadurch etwas beeinträchtigt, daß die überhalbkugelige Frontlinse der Monochromat-Glycerinimmersion, welche zur Erzielung der nötigen Apertur nur an ihrem untersten Rand von der Fassung berührt werden darf, sehr leicht aus letzterer herausspringt, wenn man mit dem Objektiv auf das Deckglas stößt, was natürlich bei so schwieriger Einstellung auch geübten Mikroskopikern sehr leicht passieren kann. Ich will nicht verfehlen, der Firma Zeiss in Jena, welche mir den so entstandenen Schaden in liberalster Weise schon zweimal kostenlos repariert hat, dafür auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Kurze Übersicht über den Zeugungskreis von *Nosema bombycis.*

(Hierzu Fig. 128 auf Tafel XXV.)

Ehe ich dazu übergehe, meine Befunde im Einzelnen zu besprechen, will ich kurz zusammenfassend berichten, wie sich der Zeugungskreis von *Nosema bombycis* nach meinen Untersuchungen darstellt.[1])

Als Ausgangspunkt mögen kleine und kleinste, jedenfalls amöboid bewegliche, einkernige Körperchen dienen, welche sich bald nach der Infektion überall in der Blutbahn der Raupe finden: die Planonten. Dieselben vermehren sich durch Zweiteilung und überschwemmen so den ganzen Körper des Wirtes, gehen aber schließlich vom intercellulären zum intracellulären Leben über, indem sie in die verschiedensten Gewebszellen eindringen. Hier werden sie alsbald, indem sie etwas heranwachsen und ihre Beweglichkeit verlieren, zu Meronten, kugeligen oder eiförmigen Zellen, welche sich lebhaft durch Zweiteilung, Knospung oder Vielteilung[2]) vermehren und schließlich die ganze von ihnen befallene Zelle ausfüllen, aber wohl niemals in andere Zellen hineinwachsen. Tritt an irgend einer Stelle der befallenen Zelle Nahrungs- oder Platzmangel ein, es verwandelt sich jeder der hier gelegenen Meronten in eine Spore, d. h. er bekommt eine länglich-eiförmige Gestalt, sein Kern teilt sich, wobei zwei Schalenkerne, ein Polkapselkern und zunächst zwei Amöboidkeimkerne entstehen, es entsteht die Sporenhülle, das Protoplasma scheidet unter Kondensation zwei Vacuolen ab und es bildet sich eine von dem Protoplasma schließlich ringförmig umgebene Polkapsel mit einem darin spiralig aufgerollten Polfaden aus. Die Sporen gelangen nach Zerfall der Zellen nach außen und infizieren nun andere Raupen, nachdem sie mit dem Futter in den Darmkanal derselben gelangt sind. Hier findet in den Sporen zunächst eine weitere Teilung der beiden Kerne des Amöboidkeims statt, es wird der Polfaden erst ausgestülpt, darauf

---

[1]) Vgl. auch die vorläufigen Mitteilungen 1907a und 1909b. Es sei aber darauf hingewiesen, daß das in 1909b gegebene Schema in manchen Punkten unvollständig ist.

[2]) Ich lege hier wie überhaupt in der vorliegenden Arbeit die von mir seinerzeit (1903 und 1905) für die Vermehrungsmodi der Protozoen vorgeschlagene Nomenklatur zugrunde, die mir durch ihre Einfachheit und die Beibehaltung älterer Ausdrücke erhebliche Vorzüge von der oft recht komplizierten und unübersichtlichen Benennungsweise mancher neueren Protozoenforscher zu bieten scheint.

in toto abgeworfen, und aus der dadurch am einen Ende der Spore entstandenen Öffnung schlüpft ein zweikerniger Amöboidkeim heraus, während die anderen beiden Kerne zugrunde gehen. Nachdem dann jedenfalls eine Verschmelzung der beiden Kerne des Amöboidkeims stattgefunden hat, tritt dieser in Teilung ein, und seine Sprößlinge, die Planonten, dringen zwischen den Epithelzellen des Mitteldarms hindurch in die Blutbahn des neuen Wirtes ein. Dadurch, daß sie auch die Eizellen infizieren, können die in diesen entstehenden Meronten und Sporen auf die nächste Generation übertragen werden. Der ganze Entwicklungscyclus von Spore zu Spore kann unter günstigen Umständen in knapp 4 Tagen vollendet sein. —

Die Planonten.

Mit dem Namen Planonten (von πλανᾶσθαι umherschweifen) bezeichne ich, wie aus obigem hervorgeht, diejenigen Stadien im Lebenscyclus der Pébrine-Parasiten, welche sich bald nach der ersten Infektion frei im Darmlumen und in den Gewebesäften der Raupe finden. Dieselben leben aber stets intercellulär und schon dadurch unterscheiden sie sich scharf von den aus ihnen hervorgehenden, stets intracellulären Meronten. Wegen ihrer Kleinheit sind sie dasjenige Stadium, das am schwersten aufzufinden und zu identifizieren ist, weil die Gefahr einer Verwechslung mit anderen Microorganismen, besonders Coccen, oder auch mit kleinsten Detritusmassen sehr groß ist. Die Planonten sind die direkten Abkömmlinge des aus der Sporenhülle geschlüpften Amöboidkeims, und man findet sie daher schon am 1. und 2. Tage nach der Infektion im Inhalt des Vorder- und Mitteldarms. Es sind sehr kleine, etwa 0,5—1,5 μ messende, in Dauerpräparaten meist kugelig abgerundete Körperchen, welche in ihrem Innern einen hellen Fleck zeigen, innerhalb dessen man unter günstigen Umständen bei gelungener Färbung ein dunkleres Körnchen erkennen kann: den Kern (Fig. 15, 125—127). Durch diese Struktur unterscheiden sie sich einigermaßen scharf von den Coccen, die zuweilen auch im Darmkanal der Raupen vorkommen, während ihre Kleinheit andererseits eine Verwechslung mit den viel größeren Chlorophyllkörnern ausschließt, welche aus der Nahrung der Raupe stammen und ebenfalls in allen Stadien der Zersetzung im Darmlumen zu finden sind. Sehr häufig liegen die jungen Planonten auch noch in der Nähe leerer Sporenhüllen, sind aber meist bereits in lebhafter Vermehrung durch Zweiteilung und Knospung begriffen, so daß man gewöhnlich ganze Nester antrifft. Sie besitzen jeden-

falls eine amöboide Beweglichkeit, doch wird dieselbe bei der großen Oberflächenspannung, der so kleine Körper unterliegen, wohl nicht sehr lebhaft sein, und es ist mir auch niemals gelungen, sie am lebenden Objekt ganz einwandsfrei zu beobachten, da die Molekularbewegung dieser winzigen Körperchen viel zu groß ist, um sichere Ergebnisse zu gestatten. Daß aber eine Eigenbewegung vorhanden ist, geht daraus hervor, daß die Planonten alsbald das Darmlumen verlassen und nun zwischen den Epithelzellen des Mitteldarms hindurch in den Körper der Raupe einwandern. Zwar ist es technisch ganz unmöglich, diese Einwanderung am lebenden Objekt direkt zu verfolgen, aber trotzdem ist an der Richtigkeit obiger Angabe kaum ein Zweifel möglich, denn man findet an konserviertem Material vom zweiten Tage nach der Infektion an einzelne dieser kleinen Körper tatsächlich zwischen den Epithelzellen (Inf.-Vers. A und B, cf. Fig. 15). Andere sind zu dieser Zeit bereits weiter vorgedrungen und liegen im Schizocöl des Darmrohrs, ja selbst in Blutlakunen weiter entfernter Organe, wohin sie ja natürlich, einmal in den Blutstrom gelangt, leicht entführt werden. Trotz dieser großen passiven Beweglichkeit haben die Planonten aber augenscheinlich die Tendenz, sich möglichst bald irgendwo dauernd festzusetzen. Es geschieht dies in sehr charakteristischer Weise, indem sie sich an irgend eine, die Blutlakune begrenzende Zelle anlegen, wobei sie oft eine halbkugelförmige Gestalt erhalten (Fig. 15). Sehr bald darauf treten sie dann in das Protoplasma der betreffenden Zelle ein und verwandeln sich nun in Meronten. Während des Umhertreibens im Blutstrom, sowie auch noch nach der Festheftung sind sie dauernd in Zweiteilung und Knospung begriffen, und es schwankt daher ihre Größe innerhalb weiter Grenzen, nämlich zwischen 0,5 und 2,5 μ. Im übrigen gleichen sie ihren noch im Darmlumen lebenden Genossen; höchstens macht sich bei Behandlung mit Farbstoffen eine etwas stärkere Färbbarkeit ihres Protoplasmas bemerklich. So halten sie — sowohl nach Osmiumsäure- wie nach Sublimatkonservierung — das Methylenblau des Giemsa'schen Farbgemisches und auch das Hämatoxylin nach längerer Salzsäure-Alkohol-Behandlung recht hartnäckig fest und heben sich daher auch in genügend dünnen Schnitten (1—2 μ!) färberisch sehr scharf gegen das Wirtsgewebe ab (Fig. 15). Zur Untersuchung ihrer Eigenstruktur, die nur unter günstigen Umständen einen Kern erkennen läßt, ist bei der starken Überfärbung ihres Protoplasmas stets maximale Beleuchtung, d. h. volle Ausnutzung der Apertur des Systems mittels des Immersionskondensors (s. o.) nötig.

Aus dem Gesagten ergibt sich, daß die Parasiten bei der Neuinfektion zunächst ins Schizocöl und dann erst in die Körperzellen gelangen. Sie können daher, wenn sie diesen Weg innehalten, die Epithelzellen des Darms immer nur von deren Basis aus infizieren (Fig. 15). In der Tat ist das auch der meistens von ihnen eingeschlagene Weg, aber es kommen immerhin hier und da einzelne Ausnahmen vor, indem ein Planont einmal den direkteren Weg vorzieht und vom Darmlumen aus gleich in das Protoplasma einer Epithelzelle eindringt. Die Tatsache, daß aber die Mehrzahl der Parasiten jenen Umweg macht, ist wohl der Hauptgrund dafür, daß bisher keiner der zahlreichen Forscher, welche die Pébrinekrankheit studiert haben, den Modus der Infektion ermittelt hat; denn sie alle haben — wie auch ich anfangs lange Zeit — natürlich in den dem Darmlumen zugekehrten Teilen der Epithelzellen nach den jüngsten Stadien gesucht. Erst eine an späteren Entwicklungsstadien gemachte Beobachtung brachte mich auf den richtigen Weg. Man kann nämlich bei mittelstarker Gesamtinfektion sowohl am Darmepithel wie auch an anderen Stellen des Körpers leicht feststellen, daß einzelne Zellen von den Parasiten teilweise oder ganz erfüllt sind, während die direkt benachbarten Zellen oft vollkommen unberührt geblieben sind (cf. Fig. 4, 16, 20, 21). Ferner ist zu beobachten, daß die Infektion zwar am Darmkanal und seinen Adnexen am stärksten einsetzt, daß aber auch gleich im Anfang der Krankheit weit vom Darmkanal entfernt liegende Organe ergriffen sein können. Diese beiden Tatsachen drängten geradezu die Folgerung auf, daß die Infektion nicht ausschließlich in den Darmephithelien beginnt und dann von Zelle zu Zelle weiterschreitet, sondern daß die jüngsten Stadien nur im Blute der Raupe zu suchen waren, und nachdem einmal die richtige Fragestellung gegeben war, wurden diese Stadien denn auch bald gefunden. Daß der Darmkanal und seine Adnexa häufig zuerst stärker ergriffen werden, ist die natürliche Folge davon, daß die Parasiten diese Gewebe zuerst passieren müssen. Übrigens werden die Darmepithelzellen und die Darmmuskulatur mit ungefähr gleicher Schnelligkeit infiziert. Die Menge, in der die Planonten in der Blutflüssigkeit auftreten, hängt natürlich in erster Linie von der Stärke der voraufgegangenen Primärinfektion ab; sie kann bei künstlicher Infektion ziemlich groß sein und in wenigen Tagen zu einer Überschwemmung aller Wirtsgewebe mit Parasiten führen; in anderen Fällen, die den natürlichen Verhältnissen näher kommen, ist sie aber oft nur sehr mäßig und die Auffindung der Stadien wird dann nur dadurch

möglich, daß gewöhnlich mehrere Exemplare bei einander liegen. Jedenfalls können sich die Planonten lange Zeit in der Blutflüssigkeit erhalten, denn man findet hier immer noch einzelne Exemplare, wenn auch schon die meisten Gewebe mit Parasiten besetzt sind. Die Planonten sind es auch ohne Zweifel, welche ebenso wie alle anderen Zellen des Körpers die Eizellen infizieren und so zur Übertragung der Parasiten auf die nächste Generation Veranlassung geben.[1])

Schließlich muß ich noch eines besonderen Falles gedenken. Bei der Untersuchung einer Seidenspinnerraupe, welche 5 Tage vorher zum erstenmal infiziert worden war (Inf.-Vers. A), fanden sich auffallenderweise zwar relativ wenige Meronten und Sporen, dafür aber ungeheure Massen meist intercellulär liegender, mit Hämatoxylin dunkel gefärbter, rundlicher Körper der verschiedensten Größe und Form, unter denen sich auch viele kleinste mit hellem Fleck befanden, welche den Planonten der anderen Fälle zu gleichen schienen. Es ist sehr wohl möglich, daß es sich hierbei um eigentümlich geformte Niederschläge aus der Blutflüssigkeit handelt, doch könnte man auch daran denken, daß hier ein Fall von Immunität vorliegt, in dem die Gewebe der Raupe dem Eindringen und der Weiterentwicklung so starken Widerstand entgegengesetzt haben, daß es nur zu einer anormalen Vermehrung und Vergrößerung der Planonten gekommen ist.

Die Meronten.

Sobald die beweglichen, intercellulären Planonten irgendwo in das Plasma einer Zelle eingedrungen sind, verwandeln sie sich in die unbeweglichen, stets intracellulären Meronten. Kurz nach dem Eindringen sind die intracellulären Stadien nur schwer zu sehen, da sie noch die starke Färbbarkeit der Planonten besitzen und sich nur bei besonders gut gelungener Differenzialfärbung vom Wirtsprotoplasma abheben (vgl. Fig. 15 und 16 oben). Alsbald aber wachsen sie heran und zeigen nun die charakteristischen Eigenschaften der Meronten. Dieselben sind in erster Linie größer als die Planonten. Denn abgesehen von ganz jugendlichen Formen (Fig. 22, 23) beträgt ihre Durchschnittsgröße etwa 3 μ und erreicht

[1]) Ob die kleinen, 0,2 μ großen Körperchen, welche PÉREZ (1905a, p. 147) im Blut eines *Carcinus maenas* gefunden hat, die Planonten irgend einer Microsporidie gewesen sind, läßt sich ohne genauere Angaben natürlich nicht feststellen; doch möchte ich hier auf diese Möglichkeit wenigstens hinweisen.

nur selten — bei Vielteilungsformen (vgl. Fig. 59—62) — 5 μ. Ferner hält ihr Protoplasma Farbstoffe nicht so hartnäckig fest wie das der Planonten. Die feinste Struktur dieses Protoplasmas ist nur sehr selten an besonders flach ausgebreiteten und distinkt gefärbten Exemplaren zu erkennen: sie ist stets äußerst feinwabig (Fig. 53, 57, 59, 60). Wie an den ganz ähnlichen Meronten der *Thélohania mülleri* (siehe meine Arbeiten 1901 p. 157, 158; 1902 p. 244—249) kann man an ihnen eine etwas festere, Pellicula-ähnliche Außenschicht feststellen, deren Vorhandensein besonders deutlich an vielen Zweiteilungsstadien hervortritt, wo sie nach erfolgter Trennung des Endoplasmas beider Sprößlinge diese noch eine Zeitlang verbindet (Fig. 28, 29, 30, 31, 33, 34, 37) [1]. Schon daraus, wie aus der häufig von mir konstatierten Tatsache, daß die Meronten keine Pseudopodien bilden können, ergibt sich, daß diese äußere Schicht eine ziemliche Festigkeit besitzt, doch muß sie für Lösungen leicht durchlässig sein, da anderenfalls die leichte Färbbarkeit und Entfärbbarkeit der Meronten nicht zu verstehen wäre, und ja auch die osmotische Aufnahme der Nahrungsstoffe durch sie hindurch stattfinden muß. Letztere wird jedenfalls durch peptonisierende Fermente vorbereitet, welche die Meronten ausscheiden; denn es läßt sich feststellen, daß die Meronten das Protoplasma der von ihnen befallenen Zellen verflüssigen, da zwischen ihrer Oberfläche und dem Protoplasma der Wirtszelle immer eine deutliche Flüssigkeitsschicht liegt (Fig. 16, 17, 20), wie denn auch größere Merontenansammlungen ebenso wie die später daraus hervorgehenden Sporenhaufen stets in großen Flüssigkeitsvacuolen liegen (Fig. 17, 21).

Die große Mannigfaltigkeit der Kernformen, die uns bei den Meronten entgegentritt, läßt sich auf die beiden Haupttypen des ruhenden und des sich teilenden Kerns zurückführen. Der ruhende

---

[1]) Wenn Schröder (1909 p. 122) das Vorhandensein einer ectoplasmatischen Schicht bei den Meronten der *Thélohania*-Arten bezweifelt und glaubt, die hellere Färbung der Verbindungsbrücken lediglich daraus erklären zu können, daß „das Plasma der Verbindungsbrücken weniger dicht ist als das der Sprößlinge“, so ist dem entgegenzuhalten, daß dieses „weniger dichte“ Protoplasma sich jedenfalls oft ganz scharf gegen das „dichtere“ Plasma der Sprößlinge abhebt (wie in meinen Figuren häufig dargestellt ist, und wie es auch Schröder selbst in seiner Fig. 13 zeichnet). Es sind also doch wohl zweifellos hier zwei Arten von Protoplasma vorhanden. Ich will mit Schröder nicht über die Bezeichnung derselben streiten, doch scheint mir das Vorhandensein einer äußeren, bei der Teilung zuletzt durchreißenden Schicht damit klar bewiesen, und nach Analogie der übrigen Protozoen wie aus mechanischen Gründen müssen wir dieser Hüllschicht sogar eine größere Festigkeit zuschreiben als dem Innenprotoplasma.

Kern stellt sich als eine relativ ausgebreitete und grobwabige Ansammlung von chromatischer Substanz mit einzelnen eingestreuten Chromatinbröckelchen dar, welche oft unregelmäßig konturiert ist und keine deutliche Kernmembran erkennen läßt (Fig. 12, 25, 26, 51—53, 57—60). Derartige Kerne sind am lebenden Material überhaupt nicht wahrzunehmen (Fig. 28, 29, 46—49), und auch an konserviertem Material gelingt ihre vollkommene färberische Darstellung nur in seltenen Fällen mittels des Giemsa'schen Gemisches (s. d. oben citierten Figg.); meistens erkennt man nur undeutlich eine zentrale, fleckige Masse (Fig. 31, 34). Sehr viel leichter ist der Kern nachzuweisen, wenn er kurz vor oder nach der Teilung steht: man kann ihn dann sogar am lebenden Objekt wahrnehmen (Fig. 27). Es findet nämlich als Vorbereitung zum Teilungsakt eine vollkommene Konzentration des gesamten Kernchromatins statt, und man sieht, wie dabei in der Umgebung des Chromatinklumpens ein heller Raum entsteht, der nach außen hin ziemlich scharf gegen das Protoplasma abgegrenzt ist. Dieser helle Raum ist jedenfalls ein im ruhenden Kern von Chromatin, jetzt aber nur noch von Kernsaft erfüllter Teil des Kerninnern, und man wird wohl annehmen dürfen, daß er außen durch eine dünne Membran gegen das Protoplasma abgegrenzt wird. Die Kernvermehrung selbst ist auch hier wie bei allen von mir bisher untersuchten Microsporidien eine typische direkte Kernteilung (cf. auch Schröder 1909 p. 121).[1] Die zentrale Chromatinmasse sowie die sie umgebende Kernblase verlängern sich nämlich, schnüren sich dann hantelförmig ein, und, indem der Verbindungsfaden immer dünner wird und schließlich durchreißt, vollendet sich der Vorgang (Fig. 13, 14, 24, 43, 44, 50, 54). Häufig kann man übrigens wie auch bei anderen Microsporidien[2]) feststellen, daß der Verbindungsstrang der Teilhantel bogenförmig verläuft (Fig. 24, 36, 50). Nach vollendeter Kernteilung findet dann eine Wiederauflockerung des Kernchromatins statt. Sehr verschieden verhält sich das Protoplasma bei der Teilung, und zwar kann man alle

---

[1]) Indirekte Kernteilungen, wie sie Henneguy und Thélohan (1892a u. b, p. 344) bei der Sporenbildung von Microsporidien beschrieben haben, kommen nach meinen Erfahrungen bei *Nosema bombycis* überhaupt nicht vor. Auch fehlen vollkommen so komplizierte, an Mitosen erinnernde Kernteilungsbilder, wie sie neuerdings Pérez (1904, p. 215; 1905c) bei der Merontenteilung von *Thélohania maenadis* gesehen hat.

[2]) Siehe z. B. Doflein über *Glugea lophii* Dofl. (1898, Fig. 138a u. b), Stempell über *Thélohania mülleri* (1902, p. 245, Fig. 21) und *Glugea anomala* (1904b, Fig. 79 u. 80), Perrin über *Plistophora periplanetae* (1906b, Fig. 4).

drei überhaupt bei Protozoen vorkommenden Vermehrungstypen. Zweiteilung, Knospung und Vielteilung, dabei beobachten. Am häufigsten ist Zweiteilung unter gleichzeitiger Verlängerung der beiden Teilsprößlinge in der Teilungsrichtung (Fig. 24—34), und da dieser Vorgang relativ schnell von statten geht, so läßt er sich ganz gut am lebenden Objekt direkt verfolgen. Oft setzt innerhalb der Teilsprößlinge schon eine weitere Kernteilung ein, ehe die erste Protoplasmateilung vollendet ist (Fig. 35—40); es ist damit der erste Anstoß zur Kettenbildung gegeben. Zwar ist diese Form der Zweiteilung hier nicht so häufig wie bei *Thélohania mülleri* (s. meine Arbeit 1902 p. 246); aber hin und wieder findet man doch Ketten, welche denen der *Gammarus*-Parasiten an Länge nichts nachgeben (Fig. 20, 41). Zuweilen kommt es auch vor, daß die Protoplasmateilung zunächst ganz unterbleibt und wurstförmige Parasiten entstehen, in denen ich bis 7 Kerne gezählt habe (Fig. 42). Nicht immer strecken sich bei Zweiteilung die Individuen in die Länge, sondern bewahren häufig eine mehr kugelige Gestalt (Fig. 47, 48). Speziell bei dieser Form der Zweiteilung habe ich auch Fälle beobachtet, in denen die Sprößlinge nicht von gleicher Größe waren (Fig. 13, 49, 53), wo man also von einer Knospung reden konnte; doch sind derartige Vorgänge viel seltener als bei *Thélohania mülleri*. Die zuletzt besprochenen Teilungsformen mit kugeliger Abrundung der Sprößlinge leiten direkt über zu einem weiteren Modus der Zweiteilung, bei welchem die äußere Kontur des sich teilenden Mutterindividuums zunächst gar nicht verändert wird, indem nach vollendeter Kernteilung eine Furche auftritt, die gerade wie bei der Furchung einer Eizelle das Protoplasma gewissermaßen innerlich in zwei halbkugelige Hälften zerlegt (Fig. 50—52, 54—56). Zuweilen ist solche „Furchung" auch mit dem vorher beschriebenen Teilungsmodus verquickt, indem jeder Teilsprößling sich furcht (Fig. 12, 57, 58). Wenn, wie häufig, die Furchung weiter geht und ein „Vierzellenstadium" entstehen läßt, so haben wir bereits den bei Sporozoen ja so weit verbreiteten Vermehrungsmodus der Vielteilung vor uns (Fig. 14, 60—62). Allerdings ist diese Vermehrungsform bei *Nosema bombycis* nur äußerst selten anzutreffen und scheint auch niemals mehr als vier Sprößlinge aus einer Mutterzelle hervorgehen zu lassen.[1])

[1]) Neuerdings hat Pérez (1905c, p. 6, 7. Fig. 4, 6, 7) bei *Thélohania maenadis* außer Zweiteilungsstadien auch Vielteilungsstadien von Meronten beschrieben, bei denen die Vierzahl erheblich überschritten wird. Auch bei *Plistophora periplanetae* kommt nach Perrin (1906b, p. 620, 621, Fig. 1—19) bei der Vermehrung der jungen einkernigen Meronten außer Zweiteilung noch Vielteilung mit Erzeugung zahl-

Fragen wir uns, wie denn wohl das Auftreten so verschiedenartiger vegetativer Vermehrungsmodi bei einer und derselben Species zu erklären sei, so kann der zureichende Grund dafür wohl nur in der Mannigfaltigkeit der Daseinsbedingungen gefunden werden, die ein in den verschiedensten Gewebszellen lebender Schmarotzer notwendig antreffen muß. Sehen wir selbst von den sicher recht differenten chemischen Einflüssen ab, welche die verschiedenen Zellenarten auf die Parasiten ausüben, und halten wir uns an das rein Mechanische, so läßt sich schon das Zustandekommen vieler Formen ohne Schwierigkeit erklären.[1]) So werden in allen denjenigen Fällen, wo die Parasiten sich ungehindert nach allen Seiten hin ausbreiten können, kugelige Zweiteilungsstadien entstehen, während überall da, wo das Wachstum ganz ungehindert nur nach einer Richtung erfolgen kann, wie z. B. in Muskelzellen — und auch in Epithelzellen bei gleichzeitiger Mehrinfektion von der Basis aus — parallele Ketten zustande kommen. Ist endlich der Platz durch die besondere Gestalt der Wirtszelle oder durch zahlreiche Nebenbuhler beengt, so wird die Teilungsenergie sich in der Form der am wenigsten Platz beanspruchenden „Furchung" und Vielteilung äußern.

Ebenso wie bei *Thélohania mülleri* kommen auch bei *Nosema bombycis* in seltenen Fällen anormale Meronten zur Beobachtung. Dieselben unterscheiden sich von den normalen einmal durch ihre Größe und ferner häufig durch ihre Fähigkeit, im Innern ihres Protoplasmas durch endogene Knospung Sporen zu bilden. In Fig. 64 findet man eine dieser bei meinem Material äußerst seltenen Formen abgebildet, in deren Protoplasma außer drei Kernen zwei bereits zweikernige Sporen liegen.[2])

Was das zeitliche Auftreten des Meronten anbelangt, so dürfte der früheste Termin hierfür der zweite Tag nach der ersten Infektion sein; wenigstens habe ich in einem Falle (Inf. Vers. B) zu dieser Zeit schon vereinzelte Meronten im Darmepithel angetroffen.

---

reicher Sprößlinge vor. Da wir hier auch Zweiteilung und Knospung vielkerniger Individuen finden, ist die Mannigfaltigkeit der Vermehrungsformen bei dieser Microsporidie noch viel größer als bei *Nosema bombycis*.

[1]) Vgl. auch das in meiner *Thélohania*-Arbeit darüber Gesagte (1902, p. 247).

[2]) Immerhin ist nicht ausgeschlossen, daß Balbiani derartige Formen vor Augen gehabt hat, wenn er vom großen „masses sarcodiques" spricht (s. historische Übersicht). Auch die „formes grégariniennes", welche Pérez (1905 c, p. 11) bei *Thélohania maenadis* gefunden hat, sind wohl nur anormale Meronten. Dagegen dürften die von L. Pfeiffer (1891, p. 138, Fig. 61) in dem Darminhalt Pébrinekranker *Attacus Pernyi*-Raupen gesehenen großen „plasmodienartigen" Gebilde zweifellos Darmamöben gewesen sein.

In den folgenden Tagen wächst dann ihre Zahl sehr schnell, und man findet sie bereits in den verschiedensten Geweben, am zahlreichsten aber gewöhnlich im Mitteldarmepithel, wo sie, meist von der Basis aus wachsend, oft zahlreiche, parallele, rosenkranzförmige Ketten bilden (Fig. 4, 20). Wie schon bemerkt, bleiben aber nach meinen Beobachtungen die Abkömmlinge eines eingedrungenen Planonten stets innerhalb der befallenen Zelle und lassen die Nachbarzelle unberührt (Fig. 4, 20); es scheint also die äußerste Zellenschicht, wenigstens der Darm- und der Hautepithelzellen, wie eine Zellmembran der von den Parasiten abgeschiedenen plasmolytischen Substanz (s. o.) ein undurchdringliches Hindernis entgegenzusetzen.[1]) Bleibt doch diese „Membran" schließlich allein erhalten, wenn der ganze protoplasmatische Zellinhalt von den Parasiten „ausgefressen" ist! Auch bei Infektion einer Muskelfaser wird die äußerste Schicht, das Sarcolemm, von den Parasiten stets verschont, während auch hier die eigentliche Muskelsubstanz durch die von der Peripherie gegen das Zentrum allmählich vordringenden Parasiten aufgelöst wird (Fig. 5, 17). Auch die Kerne der befallenen Zellen werden selbst nicht angegriffen, doch degenerieren sie natürlich, nachdem sie ihres protoplasmatischen Nährbodens beraubt sind, man findet ihre geschrumpften Reste dann in Epithelzellen zwischen den Parasitenmassen, in befallenen Muskelfasern in den spärlichen Strängen protoplasmatischer Substanz, welche die Parasiten übrig gelassen haben (cf. Fig. 2, 18, 21).

Im allgemeinen verwandeln sich die Meronten überall da, wo Nahrungs- und Platzmangel eintritt, in Sporen; aber es scheint Regel zu sein, daß einige Exemplare selbst in vollkommen von Parasiten erfüllten Zellen noch längere Zeit ihre Merontennatur beibehalten; wenigstens vermißt man sie nur selten ganz in irgendeiner Parasitenmasse.

Sehr eigenartig verhalten sich die Meronten in den Eizellen. Sie passen sich nämlich meistens genau der besonderen Entwicklungsweise dieser Eier an, indem sie sich nicht an der Peripherie, sondern hauptsächlich im Zentrum des Eies anhäufen, also da, wo sie die erste Entwicklung des Embryos noch am wenigsten stören (Fig. 19 *p*). Es ist gerade, als ob sie wüßten, daß es für die Erhaltung ihrer Art vorteilhafter ist, wenn die Embryonen ihre Entwicklung

[1]) Ich will es dahingestellt lassen, ob sich alle Epithelzellen so verhalten; ich habe allerdings auch bei anderen Epithelien bisher kein anderes Verhalten konstatieren können.

vollenden und so die Keime der Krankheit weiter verschleppen, als wenn Embryo und Parasiten zusammen in der Eihülle begraben werden! Teilweise verwandeln sich diese Merontenhaufen in Sporen, teilweise aber vermehren sie sich auch nach einer Ruheperiode, die mit der Ruheperiode des Eies zusammenfällt, als Meronten und zwar wachsen sie, wie ich an Schnitten durch Embryonen habe feststellen können, oft direkt in die embryonalen Zellen hinein und vermitteln auf diesem Wege die Infektion. Da bei dieser Art der „Vererbung" hauptsächlich das für die Ernährung so wichtige Mitteldarmepithel der jungen Raupe in Mitleidenschaft gezogen wird, so wird diese bei stärkeren Infektionen kaum über die erste Jugend hinauskommen. In der Tat habe ich bei einigen eben ausgeschlüpften, erblich infizierten Raupen bereits das gesamte Mitteldarmepithel vollkommen von Meronten und Sporen durchsetzt gefunden. Eine andere Infektionsquelle für die jungen Raupen bilden natürlich die reifen Sporen. Wenn diese, wie das ja bei ihrer Lage in der Eizelle leicht geschehen kann, in das Lumen des neugebildeten Darmkanals geraten, so werden sie sich gerade so verhalten, als wären sie von der Raupe mit dem Futter aufgenommen worden, und es wird dann die Infektion der jungen Raupe auf dem noch zu schildernden, mehr indirekten Wege, durch Vermittlung des Amöboidkeims und weiterhin der Planonten erfolgen.

Die Sporen.

Wie schon ausgeführt, verwandeln sich die Meronten bei Eintritt ungünstiger Lebensbedingungen in Sporen. Da diese in ihrem Innern die Geschlechtsgeneration ausbilden, finden wir also auch hier wie bei so vielen Protozoen das Auftreten der Gameten in ursächlichem Zusammenhang mit dem Eintritt ungünstiger äußerer Lebensbedingungen.

Während nun bei vielen anderen Microsporidien, z. B. bei *Thélohania mülleri*, aus einem Meronten stets mehrere Sporen hervorgehen, so daß man eine zwischen Meronten und Sporen eingeschobene Sporontengeneration unterscheiden kann, fällt diese hier aus, und die Dauerformen bilden sich direkt aus den vegetativen Stadien. Mit der Ausbildung der Sporenhülle, welche bei einzelnen Meronten schon am dritten Tage nach der ersten Infektion einsetzen kann und dann am vierten Tage vollendet ist, wird dem vegetativen Leben und der vegetativen Vermehrung der betreffenden Individuen ein Ziel gesetzt, denn die Sporen dienen hier wie wohl bei

allen Myxosporidien lediglich der Neuinfektion anderer Wirte und — damit zusammenhängend — der Ausbildung der Geschlechtsgeneration, können sich also innerhalb des ersten Wirtes selbst nicht mehr verändern oder vermehren. Deshalb häufen sie sich auch an den Infektionsstellen in immer größer werdenden Massen an und und übertreffen schließlich an Zahl bei weitem die Meronten, und das ist der Grund dafür, daß sie bisher die einzigen ganz sicher bekannten Formen aus dem Lebenscyclus der Pébrineparasiten waren.[1])

Die erste äußere Veränderung, welche mit den sich in Sporen umwandelnden Meronten vorgeht, ist die Ausscheidung einer zunächst dünnen Hülle. Das Auftreten derselben macht sich schon dann, wenn man sie selbst optisch noch nicht wahrnehmen kann, dadurch kenntlich, daß der Zellinhalt sich bei der Giemsa-Färbung der Farbstoff ausziehenden Wirkung des Alkohols gegenüber resistenter verhält: wenn in einem derartigen Präparat alle eigentlichen Meronten längst ihre Farbe eingebüßt haben, bewahren in den jungen Sporen Protoplasma und Kern die typische Blau- und Rotfärbung, und es gelingt leicht, hier gute Resultate zu erzielen (cf. Fig. 16, 65, 66, 70, 71, 73 u. a.). Das Vorhandensein einer noch dünnen Hülle gibt sich bei solchen werdenden Sporen in Dauerpräparaten auch oft daran kund, daß sie infolge teilweisen Eindrückens dieser Hülle keine ganz glatte Oberfläche mehr zeigen, sondern daß diese wie zerknittert aussieht. Sehr bald nach dem Auftreten der Hülle findet dann eine Kondensation des Protoplasmas statt. Dasselbe bekommt ein dichteres Gefüge, was sich durch stärkere Färbbarkeit äußert, und die dadurch freiwerdende Flüssigkeit sammelt sich an einer oder mehreren Stellen in Form von Vacuolen an (Fig. 65, 66, 68—73, 77—84). Später entsteht dann zunächst immer eine einzige, große Vacuole am einen Ende der Spore (Fig. 70, 87—89), und erst gegen Ende der Sporenentwicklung

[1]) Allerdings ist es wahrscheinlich, daß die „petites masses sarcodiques" Balbiani's sowie die „cellules" Pasteur's (s. historische Übersicht) Meronten gewesen sind; eine klare Vorstellung von dem Wesen dieser Formen haben aber beide Forscher nicht gewonnen. Viel wahrscheinlicher ist, daß Mesnil (s. histor. Übersicht) die Meronten von *Nosema bombycis* richtig erkannt hat, und auch Léger & Hesse, die (1907, p. 6) in einer ganz kurzen Note von „sporoblastes monosporés" des *Nosema bombycis* sprechen, dürften die Meronten vor Augen gehabt haben. Thélohan bildet (1895, Fig. 127) übrigens bei *Thélohania giardi* (Henneguy) Meronten ab, ohne sie aber von den Sporonten zu unterscheiden, denn er postuliert zwar logisch ihr Vorhandensein, erklärt aber, vegetative Vermehrungsformen niemals gesehen zu haben (l. c. p. 244, 245).

breitet sich deren Inhalt auch nach der anderen Seite der Spore aus und nimmt schließlich mehr Raum ein als das Protoplasma. Letzteres sammelt sich hauptsächlich an einer etwas neben der Mitte der Sporenlängsachse gelegenen Stelle an und bildet hier einen ringförmigen Gürtel[1]) (Fig. 85, 90—95, 107—109, s. auch Textfig.). Inzwischen hat die Spore eine eiförmige Gestalt angenommen und die Hülle sich sehr beträchtlich verdickt.

Während dieser Umwandlungen haben sich an der Kernsubstanz wichtige Prozesse abgespielt, welche als Grundlage jener dienen. Zunächst ist zu konstatieren, daß der Kern, welcher bei den Meronten meist zentral liegt, häufig an das eine Ende der jungen Spore rückt und ein viel kompakteres Gefüge erhält[2]) (Fig. 65—73), ohne daß es dabei aber zur Ausbildung eines hellen Hofes kommt. Darauf finden mehrere Kernteilungen statt. Es entstehen nämlich durch schnell aufeinanderfolgende Zweiteilungen aus dem ursprünglichen Kern zunächst 4 Kerne, die vielleicht in manchen Fällen ursprünglich von gleicher Größe sind (Fig. 63?), meist aber dann, wenn sie zur Beobachtung gelangen, schon stark in der Größe differieren. Der ganze, sehr unscheinbare und nur äußerst schwer und selten zu konstatierende Vorgang dürfte so verlaufen, daß sich ein sehr kleiner Kern von dem größeren abgeschnürt und aus diesem dann durch Zweiteilungen (Fig. 67) zwei winzige Kerne hervorgehen, welche man auf späteren Stadien der äußeren Peripherie der Zelle dicht angelagert findet (Fig. 80, 83). Gleichzeitig erscheint ein dritter, wohl ebenfalls aus dem großen Kern hervorgehender (cf. Fig. 67) kleiner Kern (Fig. 80), der sich, wie es scheint, in der Gegend der Hauptansammlung des Sporenprotoplasmas, der Polkapsel anlegt (Fig. 83). Man wird diese Kerne als Schalenkerne und Polkapselkern aufzufassen haben, da sie gerade in derjenigen Zeit auftreten, wo die betreffenden Differenzierungen der Spore sich ausbilden und vollständig unsichtbar werden, wenn deren Ausbildung vollendet ist. Ganz ähnliche „Nebenkerne“ habe ich bereits bei *Thélohania mülleri* gesehen und auch abgebildet (1902, Fig. 80), und in meiner Arbeit über *Glugea anomala* findet sich außer zahlreichen Abbildungen dieser Kerne (1904 b, Fig. 68, 71, 83, 90, 91, 92, 94, 95,

---

[1]) Eine derartige Konfiguration des Sporenprotoplasmas, die ich zuerst an der Spore von *Glugea anomala* (1904 b, p. 29) festgestellt habe, scheint allen Microsporidiensporen eigentümlich zu sein (vgl. Mercier 1908, p. 38, Schröder 1909, p. 127, u. a.).

[2]) Derselbe Prozeß findet nach Perrin (1906 b, p. 624) auch bei der Sporenbildung von *Plistophora periplanetae* statt.

96) eine kurze Bemerkung über sie im Text (p. 27); auf eine Deutung, die bei der Kleinheit dieser Objekte äußerst schwierig und unsicher ist, und für die in jener Zeit auch noch keine Analogien vorlagen, habe ich mich aber damals nicht eingelassen. Inzwischen haben sich unsere Kenntnisse vom Bau der Myxosporidienspore indessen erheblich vertieft. Durch zahlreiche Arbeiten der jüngsten Zeit[1]) ist der einwandfreie Nachweis erbracht worden, daß die Sporenhülle der viel leichter zu untersuchenden Actinomyxidien und phänocysten Myxosporidien ebenso wie jede Polkapsel das Umwandlungsprodukt bestimmter Zellen ist, und es mehren sich nun die Stimmen, welche für die Microsporidienspore dasselbe behaupten. So haben Léger und Hesse (1907, p. 6) in einer ganz kurzen Zusatznote zu ihrer Arbeit über *Coccomyxa morovi* die Behauptung aufgestellt, die Spore von *Nosema bombycis* enthielte ebenso wie diejenige der *Coccomyxa* „cellules valvaires et cellule capsulogène à noyau très petit, sporoplasma tantôt à deux noyaux tangents, tantôt avec un noyau unique un peu plus gros". Ferner hat Mercier (1908 p. 37, Fig. 12—16) in der Spore von *Thélohania giardi*, einem in dieser Hinsicht scheinbar sehr günstigen Objekt, die Bildung zweier Schalenzellen, einer Polkapselzelle und eines erst zwei und später vierkernigen Amöboidkeimes beobachtet. Ähnliches berichtet in jüngster Zeit Schroeder (1909, p. 127, 128 Fig. 42), der bei *Thélohania chaetogastris* in einigen wenigen Fällen außer drei größeren Kernen, von denen er einen als Polkapselkern bestimmt, noch zwei kleinere Kerne in der Spore gesehen hat, die er als Schalenkerne bezeichnet. Endlich hat Awerinzew (1909 p. 108) gelegentlich von den Microsporidien kurz gesagt, daß „auch bei ihnen Zellen der Hülle und der Polkapseln auftreten". Für eine so kurze Spanne Zeit schon eine recht stattliche Anzahl von Deutungen! Denn daß es sich um solche, nicht aber um lauter sicher konstatierte Tatsachen handelt, weiß jeder, der sich einmal mit dem so schwierigen Studium der Microsporidienspore beschäftigt hat. Wenn wir auf dem sicheren Boden der Tatsachen bleiben wollen, so werden wir gut tun, die Sache nicht so hinzustellen — wie es manche der citierten Forscher tun —, als ob denn nun die Existenz gesonderter Polkapsel*zellen* und Schalen*zellen* in der Microsporidienspore sonnenklar bewiesen wäre, sondern wir können höchstens sagen, es sind in dieser Spore kernartige Differenzierungen vorhanden, welche den Kernen der Schalen- und Polkapselzellen der Myxosporidien vergleichbar sind, und da

[1]) Caullery et Mesnil (1905), Léger (1906), Léger u. Hesse (1906), Schröder (1907) u. a.

die Schale und Polkapsel scharf gegen den Sporeninhalt abgegrenzte Gebilde sind, so kann man auf das Vorhandensein gesonderter Ursprungszellen schließen. Einer so gefaßten Definition will ich mich für meine früheren und jetzigen Befunde gern anschließen [1]) (s. auch Textfig. auf p. 317).

Nach Ausbildung der Polkapsel- und Schalenkerne teilt sich schließlich der übrig bleibende Kern des Amöboidkeimes amitotisch (Fig. 74, 75, 77), und es rücken die beiden gleichen Teilhälften in die schon erwähnte, ringförmige Hauptansammlung des Protoplasmas hinein (Fig. 81—83, 84, 90—95).[2]) Inzwischen hat sich auch die äußere Gestalt der werdenden Spore verändert. Solange nämlich die Sporenhülle noch dünn ist, buchtet die schon erwähnte große Vacuole am einen Ende der Spore die Hülle etwas vor, und so erhält die dünnschalige Spore eine birnförmige Gestalt [3]) (Fig. 70, 83, 86—89); allmählich erfährt aber die Sporenhülle eine gleichmäßige, recht erhebliche Verdickung, dadurch verschwindet jene Ausbuchtung, und die äußere Gestalt der Spore wird schließlich wieder eiförmig (Fig. 90—101). Da die Hülle, welche im ausgebildeten Zustand reichlich 0,5 μ dick ist (s. Textfigur 1 auf S. 317), fast dasselbe Lichtbrechungsvermögen besitzt wie Kanadabalsam, so erscheinen die Sporen in diesem stets viel kleiner als in einer Flüssigkeit von geringerem Brechungsvermögen (vergl. z. B. Fig. 90—95 mit Fig. 96 bis 101). Ihre wahre durchschnittliche Länge beträgt 4 μ, ihre Breite 2 μ, doch kommen auch erhebliche anormale Größenvariationen vor; so ist z. B. die in Fig. 102 abgebildete Riesenspore 6 μ lang und 4 μ breit, ja ich habe Sporen gesehen, welche 5 mal so groß waren als normale! [4]) Häufig vorkommende geringere Größenunterschiede sind einfach auf die bei verschiedenen Ernährungs- und Platzverhältnissen auch recht variable Größe der Meronten zurück-

[1]) Gewiß sind wir durch die neueren Feststellungen erheblich und wesentlich in der Kenntnis der Microsporidienspore gefördert worden; wenn aber Schröder (l. c. p. 126) sagt, daß seit den Arbeiten Thélohan's verhältnismäßig geringe Fortschritte in dieser Hinsicht zu verzeichnen wären, und erst die kurze Notiz von Léger u. Hesse sowie die Arbeit Mercier's genauere Angaben darüber gebracht hätten, so ist das ein kleiner historischer Irrtum, den ich als Mitbeteiligter gern als einen lapsus calami auffassen möchte.

[2]) Die in Fig. 78 u. 79 dargestellten Kernteilungen dürften, nach der Gestalt der Sporen zu schließen, wohl die der Bildung der Schalen- und Polkapselkerne voraufgehenden Teilungen sein, vielleicht gehören auch Fig. 74, 76 u. 77 hierher.

[3]) Solche birnförmigen Stadien sind auch schon von älteren Beobachtern gesehen und unterschieden worden (Pasteur, Balbiani, s. historische Einleitung).

[4]) Derartige Riesensporen entstehen wahrscheinlich aus anormalen Meronten.

zuführen und dürften mit sexuellem Dimorphismus, den einige Autoren bei den Microsporidien daraus herleiten,[1]) gar nichts zu tun haben. Auch Mißbildungen der Sporen sind hier und da anzutreffen, wenn sie auch infolge der Bildung der Sporen aus je einem Meronten nicht ganz so häufig sind wie bei *Thélohania mülleri.* Sie haben, besonders wenn es sich dabei um Verwachsungen zweier Sporen handelt, häufig zu irrigen Annahmen einer Vermehrung der Sporen durch Zweiteilung geführt,[2]) ein Vorgang, der schon durch die Dickschaligkeit der Sporen ausgeschlossen ist. Wenn auch die geschilderten Umwandlungen, welche die einzelnen Teile der Spore während ihrer Entwicklung durchmachen, im allgemeinen bei allen Sporen den gleichen Richtlinien folgen, so finden sich doch im einzelnen mannigfache Variationen und Abweichungen vom Schema, so daß uns die einzelnen Stadien in recht verschiedenartiger Gestalt entgegentreten können (cf. Fig. 65—85).

Der Polfaden und die ihn umgebende Polkapsel scheinen in der Spore ungefähr zu der Zeit zu entstehen, wo diese die oben beschriebene birnförmige Gestalt besitzt, und zwar bildet der Polfaden sich vermutlich durch Einstülpung der Sporenhülle an dem nicht von der großen Vacuole eingenommenen Pol der Spore aus.[3]) Wenn man nämlich derartige Sporen ohne Zusatz weiterer Reagenzien untersucht, kann man häufig an ihrem spitzen Ende einen kleinen, stift-

---

[1]) Was Kulagin (1898) als *Nosema bombycis* aus *Lyda nemoralis*, einer Gespinnstblattwespe, beschreibt und abbildet, sind sicher keine Sporen der Pébrineparasiten; ja man muß nach der Beschreibung und Abbildung sogar stark bezweifeln, daß diese kugeligen, einkernigen Gebilde überhaupt Microsporidiensporen gewesen sind. Damit erledigt sich die von Kulagin aufgestellte Behauptung, es käme bei *Nosema bombycis* ein sexueller Dimorphismus von Macro- und Microsporen vor, von selbst. Doch auch in anderen Fällen, in denen bei echten Microsporidien Macro- und Microsporen beschrieben worden sind (Léger 1897 bei *Glugea varians*, Hesse 1903 a u. b bei *Gurleya légeri* und *Thélohania janus*, Schröder 1909, p. 128 bei *Thélohania chaetogastris*), dürfte es sich kaum um sexuellen Dimorphismus handeln, sondern nur um Größenunterschiede der Sporen, die ja so häufig vorkommen, oder auch um Doppelinfektionen mit verschiedenen Microsporidienspecies.

[2]) Vgl. z. B. die Angaben von Lebert (1856—1857, p. 16, Fig. 21 c u. 24), Naegeli (1857, p. 760), Pasteur (1867, p. 835) für *Nosema bombycis*. Vielleicht sind auch Schewiakoff's (1894, p. 22, Fig. 33 a—l) darauf bezügliche Angaben über die Sporen von *Plistophora schmeili* (L. Pf.) hier anzuführen; doch steht noch nicht fest, ob diese Form ein echtes Microsporid ist.

[3]) Von Mercier (1908, p. 37, Fig. 14) wird die große, bei der Sporenbildung entstehende Vacuole ohne weiteres mit der Polkapsel identifiziert. Ich halte es aber für wahrscheinlicher, daß die Polkapsel als selbständiges Gebilde entsteht und erst später in die große Vacuole hineinwächst.

förmigen Fortsatz beobachten (Fig. 89), der nichts anderes als der basale Teil des Polfadens ist, ja in seltenen Fällen kann man sogar ein größeres Stück des Polfadens ausgestülpt finden (Fig. 111). Diese leichte Ausstülpung von Teilen des Polfadens ist vielleicht auf den durch das Deckglas von außen auf die Sporen ausgeübten Druck zurückzuführen, der bei jungen, noch dünnschaligen Sporen leicht veranlassen kann, was bei reifen, hartschaligen Sporen nicht mehr möglich ist; vielleicht ist es aber auch ein normaler, bei der Entwicklung des Polfadens stets von selbst auftretender Prozeß.[1]) Jedenfalls zeigt uns der Vorgang, daß in diesen birnförmigen Sporen der Polfaden bereits angelegt ist, wenn er auch, wie es scheint, noch nicht seine endgültige Länge erreicht hat. Sein Nachweis im Innern der reifen Spore ist mit großen technischen Schwierigkeiten verknüpft, da das starke Lichtbrechungsvermögen der dicken Hülle die Untersuchung des Sporeninhaltes sehr erschwert, wenn die Sporen in einer wässerigen Flüssigkeit liegen, und Überführung in eine Flüssigkeit von höherem Brechungsindex zwar die Hülle durchsichtig macht, damit aber auch den im Innern der Spore liegenden Polfaden, dessen Sichtbarkeit im wesentlichen auf Unterschieden im Lichtbrechungsvermögen beruht, dem Auge entzieht. Dazu kommt, daß es sich bei diesem aufgerollten Polfaden überhaupt um ein Gebilde handelt, dessen Struktur mit Hilfe des Mikroskops nur unter bestimmten Voraussetzungen auflösbar ist. Eine einfache Berechnung wird dies zeigen.

Da die ganze Spore etwa 4 μ lang und 2 μ dick ist, und die Dicke ihrer Hülle 0,5 μ beträgt, so mißt der von der Schale umschlossene Innenraum etwa 3 μ im größten und 1 μ im kleinsten Durchmesser. Nun werden etwa $^1/_3$ dieses Innenraums durch die Hauptansammlung des Protoplasmas eingenommen, es verbleibt also für den eingerollten Polfaden im besten Falle ein Raum von 2 μ Länge und 1 μ Querdurchmesser. Wie wir noch sehen werden, ist der Polfaden wenig mehr als 30 μ lang und liegt spiralig aufgerollt in diesem Raum. Da infolge des verfügbaren Platzes der Durchmesser jeder Windung höchstens 1 μ betragen und also ihr Umfang 3 μ nur wenig übersteigen kann, so werden im ganzen höchstens 10 Windungen in jenem Raum liegen können. Nehmen wir an, der Polfaden besitze eine Dicke von 0,1 μ, so würden die Zwischenräume zwischen den einzelnen Windungen also ebenso groß sein.

---

[1]) AWERINZEW hat neuerdings (1909, p. 100, Fig. 11) an der Spore von *Ceratomyxa drepanopsettae* auch eine temporäre Vorstülpung der verdickten Polfadenbasis während der Entwicklung beobachten können.

Es fragt sich nun, ob derartig feine, periodische Strukturen mittels des Mikroskops noch sichtbar gemacht werden können. Für den kleinsten Abstand zweier Punkte, der noch mikroskopisch wahrgenommen werden kann, gilt bekanntlich die Formel:

$$e = \frac{\lambda}{a},$$

wenn e den gesuchten Abstand, λ die Wellenlänge des benutzten Lichtes und a die numerische Apertur des benutzten Objektivsystems ist. Liegt das Objekt in Luft, nehmen wir als durchschnittliche Wellenlänge des weißen Lichts 0,550 μ an und benutzen wir die Zeiss'sche Apochromat-Ölimmersion von der numerischen Apertur 1,30, so ergibt sich für

$$e = \frac{0{,}550\ \mu}{1{,}30} = 0{,}42\ \mu,$$

liegt das Objekt in Wasser oder einer Flüssigkeit von gleichem Brechungsexponenten, so kann die Wellenlänge des weißen Lichtes etwas niedriger, nämlich zu etwa 0,413 μ angenommen werden, und wir finden dann

$$e = \frac{0{,}413}{1{,}30} = 0{,}31\ \mu,$$

also eine Größe, die immer noch drei mal so groß ist als der aufzulösende Abstand. In der Tat kann man auch bei sorgfältigster Einstellung auf die Mitte der Spore und Ausnutzung der vollen Apertur unter diesen Umständen immer nur einen dunklen, verwaschenen Längsstrich in der Spore wahrnehmen (Fig. 98), der übrigens auch zuweilen an gefärbten Sporen sichtbar wird (Fig. 90, 91). Es ist dies nicht etwa eine Längsnaht, wie frühere Beobachter (Leydig 1863, Thélohan 1895, p. 258, 355 Fig. 141 [1])) geglaubt haben, sondern die undeutliche, optisch noch nicht differenzierte Abbildung der gesamten Polkapsel (s. auch meine Arbeit 1904 b, p. 28). Nehmen

[1]) Wie auch Balbiani (1884, p. 155) in Zurücknahme einer früheren Ansicht sagt, ist jedenfalls an der Spore der vorliegenden Art nichts von einer Zweiklappigkeit zu entdecken, und auch das Ausschlüpfen des Amöboidkeimes findet, wie weiter unten auseinandergesetzt werden wird, nicht nach Aufplatzen einer Längsnaht statt. Trotzdem legt natürlich die wahrscheinliche Entstehung der Sporenhülle aus zwei Kernen, bz. Zellen den Gedanken sehr nahe, daß sie aus zwei Hälften zusammengesetzt sei. Es scheint sich dieser Bau bei manchen anderen Microsporidienarten auch äußerlich zu dokumentieren. So berichtet Thélohan (1895, p. 258), daß er bei *Thélohania giardi* einmal eine Zweiklappigkeit der Sporenhülle durch Dehiscenz der beiden Klappen beobachtet habe, und Perrin (1906, p. 624, Fig. 49) hat an der Spore von *Plistophora periplanetae* ebenfalls eine deutliche Längsnaht beschrieben.

wir nun zur Beleuchtung äußerst schiefes Licht, für dessen Anwendung die Formel gilt:

$$e = \frac{\lambda}{2a},$$

so würde sich bei Untersuchung in Wasser für

$$e = \frac{0{,}413\ \mu}{2{,}60} = 0{,}158\ \mu,$$

also ein Wert ergeben, der dem gesuchten schon viel näher kommt. In der Tat kann man, wenn man die schiefe Beleuchtung so einrichtet, daß die Strahlen parallel zur Sporenlängsachse einfallen, bereits eine, allerdings noch sehr undeutliche Querstreifung des oben erwähnten, dunklen Mittelstrichs wahrnehmen (Fig. 99). Man kann dieses Bild noch etwas dadurch verbessern, daß man den Sporeninhalt mit Jodtinktur schwach anfärbt (Fig 100), oder aber auch dadurch, daß man statt Wasser eine Untersuchungsflüssigkeit von höheren Brechungsexponenten als Wasser nimmt. Hier treten allerdings die schon oben erörterten Bedenken ein, welche die Wahl eines zu hoch brechenden Mediums verbieten, und man kann daher auf diesem Wege nur bis zu einer bestimmten Grenze fortschreiten. Speziell für die Microsporidienspore gibt verdünnte Salpetersäure eine Beobachtungsflüssigkeit ab, deren Brechungsexponent (ca. 1,4) ungefähr den günstigsten Bedingungen entspricht und erlaubt, den Wert für e auf 0,15 μ [1]) zu erniedrigen, und die außerdem die Sporenschale etwas durchsichtiger macht. In der Tat kann man bei Anwendung von Salpetersäure und günstiger schiefer Beleuchtung auch etwas bessere Andeutungen der Polfadenspirale erhalten (Fig. 101), als bei Untersuchung in Wasser; [2]) aber alle diese Bilder sind — wie man ja auch nach der theoretischen Berechnung erwarten muß — noch viel zu unklar,[3]) um eine sichere Anschauung vom

[1]) Bei Anwendung eines Systems von der Apertur 1,40 sogar auf 0,14 μ.

[2]) Auch Thélohan hat (1895, p. 263, Fig. 145) bereits durch Behandlung mit Salpetersäure die Polkapsel von *Nosema bombycis* als nicht weiter differenziertes Ganzes sichtbar gemacht; sie ist aber auf seiner Abbildung etwas zu kurz dargestellt. Es hat das seinen Grund wahrscheinlich darin, daß Thélohan die frischen Sporen mit starker Salpetersäure behandelte, wodurch, wie er selbst sagt (p. 259), die Sporenhülle stark aufquillt. Ich habe bei Behandlung der konservierten Sporen mit verdünnter Salpetersäure nichts derartiges bemerken können (vgl. auch die Fig. 8—11). So schematisch deutlich, wie Schröder (1909) die Polkapsel bei *Thélohania chaetogastris* gezeichnet hat, habe ich sie noch niemals in einer Microsporidienspore gesehen. Dasselbe gilt von den von Mercier (1908, Fig. 15 u. 16) gegebenen Bildern, die der Autor übrigens selbst als „demi-schématiques" bezeichnet.

[3]) Die auf der Tafel wiedergegebene Zeichnung stellt das unter diesen Bedingungen Gesehene immer noch viel zu deutlich dar, da es ganz unmöglich ist,

inneren Bau der Spore vermitteln zu können.[1]) Da ein weiteres Vordringen in das Gebiet des Kleinsten hier nur möglich war, wenn man Licht von kleinerer Wellenlänge anwandte, so habe ich, wie in dem Kapitel „Material und Untersuchungsmethoden" auseinandergesetzt, das Köhler'sche Verfahren der Mikrophotographie mit ultraviolettem Licht in Anwendung gebracht. Da hierbei das Licht der Kadmiumlinie von 0,275 μ und eine Monochromat-Glycerinimmersion von der Apertur 1,25 benutzt wurde, so ergibt sich

$$\text{für } e \text{ in Luft} = \frac{0{,}275\ \mu}{1{,}25} = 0{,}22\ \mu.$$

Liegt das Objekt in Wasser, so wird

$$e = \frac{0{,}205\ \mu}{1{,}25} = 0{,}16\ \mu,$$

und liegt es in Salpetersäure oder Glycerin ($n = 1{,}4$) und wendet man außerdem äußerst schiefes Licht an, so wird

$$e = \frac{0{,}196\ \mu}{2{,}50} = 0{,}78\ \mu,$$

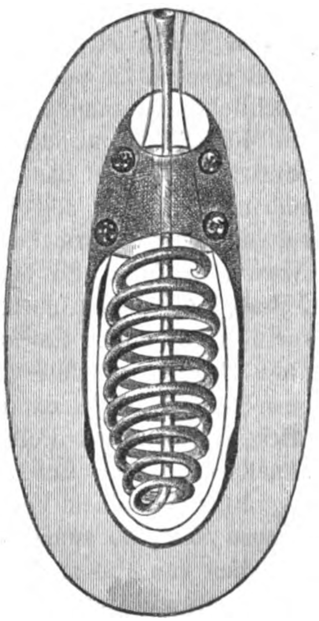
erreicht also einen Wert, der noch etwas unter dem geforderten (0,1 μ) liegt. Wie schon bei der Besprechung der Technik gesagt wurde, entsprachen die Ergebnisse der in dieser Richtung angestellten Versuche vollkommen der Berechnung. Schon bei Anwendung geraden, ultravioletten Lichtes und des Glycerins als Einschlußmittel und ohne vollkommene Ausnutzung der Apertur des Systems erhielt ich einmal eine sozusagen schematische Wiedergabe des eingerollten Polfadens (Fig. 7), die allerdings im vorliegenden Fall dadurch erleichtert wurde, daß die Längsachse der betreffenden Spore nicht senkrecht, sondern etwas schräg zu den einfallenden Lichtstrahlen lag. Bei Anwendung äußerst schiefen, parallel zur Sporenlängsachse einfallenden Lichtes, Ausnutzung der vollen Apertur und Benutzung von verdünnter Salpetersäure als Einschlußmittel erreichte ich dagegen eine vollkommen einwandfreie Wiedergabe der gesuchten Struktur (Fig. 8—11). Man kann an diesen Aufnahmen, besonders an der auf dem Bilde unten liegenden Spore durch Aus-

Details eines an sich schon so kleinen Objekts so schattenhaft wiederzugeben, wie sie der subjektiven Beobachtung erscheinen.

[1]) Nur an Riesensporen ist der eingerollte Polfaden auch ohne besondere Finessen zu sehen (Fig. 102). Auch die überhaupt größeren Sporen mancher anderen Arten bereiten geringere Schwierigkeiten; so sagt z. B. Schaudinn (1902 a, p. 310) gelegentlich, daß er in den Sporen eines „*Nosema*" (wahrscheinlich *Plistophora periplanetae* Lutz et Splendore) aus dem Darm der Küchenschabe bei stärkster Vergrößerung den aufgerollten Polfaden deutlich gesehen habe.

messung ohne weiteres die Richtigkeit der obigen Berechnung kontrollieren. Der von der Polkapsel auf der Photographie eingenommene Raum umfaßt nämlich 8×4 mm, entspricht also, da eine 3600fache Vergrößerung vorliegt, einem wirklichen Raum von 2×1 μ. Es liegen in ihm annähernd 19 abwechselnd weiß und schwarz erscheinende Querlinien, welche den 10 Umgängen der Polfadenspirale und den Intervallen zwischen diesen entsprechen und deren jede etwa 0,4 mm in der Photographie, also in Wirklichkeit etwa 0,1 μ mißt, wie angenommen.

Aus dem Gesagten ergibt sich zunächst, daß der Bau der Spore von *Nosema bombycis* im wesentlichen mit dem Bau der Spore von *Glugea anomala* übereinstimmt [1]) (s. meine Arbeit darüber 1904 b p. 25 ff., Fig. 147 u. a.), zumal die Vierkernigkeit des Amöboidkeims, welche den bisher betrachteten Sporen noch fehlt, auf einem späteren Stadium erreicht wird (s. u.). Das von mir in der genannten Arbeit (Fig. 147) gegebene Schema würde also, wenn man von der bei *Glugea anomala* vorkommenden etwas seitlichen Lage der Polfadenbasis und der Länge des Polfadens absieht, auch für die *Nosema bombycis*-Spore passen; nur eine kleine Änderung erscheint noch nötig. Aus den bei ultraviolettem Licht aufgenommenen Photographien (besonders Fig. 7), ersieht man nämlich ziemlich deutlich, daß der Polfaden von seiner Ursprungsstelle erst bis zum hinteren Ende der Spore verläuft und sich dann erst um diesen „Achsenstab“ nach vorn hin schraubenspiralig aufrollt — ein Verlauf des Polfadens, wie er sich ja auch sonst häufig in Nesselkapseln findet [2]) und für die Mechanik der Ausstülpung jedenfalls vorteilhafter ist, als sofortige Aufrollung von der Basis aus [3])



Textfigur 1.
Schema des Baues einer Spore von *Nosema bombycis*.
(20000 : 1.)

[1]) Auch die Schalen- und Polkapselkerne dürften sich bei *Glugea anomala* ganz ähnlich verhalten, wie aus meinen Abbildungen ziemlich sicher hervorgeht.

[2]) Vgl. z. B. die Angaben Awerinzew's (1909, p. 101, Fig. 20 u. 21) über den Polfaden von *Ceratomyxa drepanopsettae*.

[3]) Für die angestellten Berechnungen sind natürlich die 3 μ Polfadenlänge,

(s. das Schema in Textfigur 1). Obgleich man die Schalen- und Polkapselkerne an der reifen Spore nicht mehr sieht, habe ich diese der Vollständigkeit halber auch noch in das Schema aufgenommen.

Ehe ich weitergehe, möchte ich nicht unterlassen, auch an dieser Stelle [1]) auf einige allgemeiner interessante Folgerungen aufmerksam zu machen, die sich aus dem Studium des Polfadens ergeben.

Es ist gewiß schon auffallend genug, daß innerhalb eines so winzigen, organischen Gebildes, wie es die Microsporidienspore ist, noch eine so komplizierte Differenzierung wie der in vielen Windungen schraubenspiralig aufgerollte Polfaden möglich ist. Um wie minutiöse Bildungen es sich hier handelt, wird besonders deutlich, wenn man bedenkt, daß dieser höchsens 0,1 μ dicke „Polfaden" in Wahrheit ja eine Röhre ist, deren Wände also, selbst wenn man das Lumen gleich 0 setzt, höchstens eine Dicke von 0,05 μ besitzen können! Ein glückliches Zusammentreffen günstiger Umstände gibt uns nun aber die Möglichkeit, an der Hand dieses Beispiels noch einen großen Schritt weiter in das Gebiet unerforschter Microstrukturen vorzudringen. Schon seit längerer Zeit sind nämlich Microsporodiensporen bekannt, welche noch erheblich kleiner sind als die von *Nosema bombycis.* So hat erst kürzlich Pérez (1905 a p. 146) ein *Nosema pulvis* beschrieben, dessen Sporen, wie er sagt, „ovoides de 1 μ sur 1 μ 25" sind. Es ist keinen Moment daran zu zweifeln, daß diese Sporen im wesentlichen dieselbe Struktur besitzen wie die oben beschriebenen, da man bei allen bisher genauer untersuchten Microsporidien den Polfaden gefunden hat; ja, wir werden sogar annehmen dürfen, daß die Länge des Polfadens bei dieser Art in ungefähr demselben Verhältnis zur Länge der Spore steht wie bei *Nosema bombycis*, zumal die betreffenden beiden Formen nach den Angaben von Pérez auch in ihrer sonstigen Morphologie und Entwicklungsgeschichte eine sehr große Übereinstimmung zeigen. Da die Sporen von *Nosema pulvis* nun nur etwa $^1/_3$ so groß sind als die von *Nosema bombycis*, so dürfte ihr Polfaden auch nur $^1/_3$ so dick sein, also höchstens 0,03 μ im Durchmesser betragen, und die Wandstärke dieses Rohres würde allerhöchstens 0,015 μ messen können! —

Daß es sich hier nicht um Phantasiezahlen handelt, sondern daß tatsächlich solche und wahrscheinlich sogar noch feinere Strukturen

die nicht spiralig aufgerollt sind, belanglos, zumal ich als Gesamtlänge des Fadens nur 30 μ angenommen hatte, während er in Wirklichkeit meist etwas länger (bis 34 μ) ist.

[1]) Siehe dazu meinen Aufsatz in der Zeitschr. f. physikal. Chemie (1909 a).

existieren, zeigt folgende Überlegung. In meiner Arbeit über *Glugea anomala* (1904 b) habe ich gezeigt, daß die 6 × 2 μ großen Sporen dieser Art einen Polfaden von der ungeheuerlichen Länge von 150 μ hervortreten lassen. Wie mir schon damals angestellte Beobachtungen zeigten, ist auch dieser lange Polfaden schraubenspiralig im Innern der Spore aufgerollt, und dafür steht ihm nur ein Raum von 3,4 μ Länge und 1 μ Querdurchmesser zur Verfügung. Nehmen wir nun einmal der Sicherheit halber an, es ließen die 50 Umgänge, welche diese Schraubenspirale ja mindestens machen muß, keine Zwischenräume zwischen sich, so würde der Durchmesser dieser Röhre höchstens 0,068 μ und ihre Wandstärke höchstens 0,034 μ betragen können — also auch noch weniger als bei *Nosema bombycis*. Nun hat aber Pérez (1905 b p. 150) unter dem Namen *Glugea stempelli* ein Microsporid beschrieben, welches verwandtschaftlich der *Glugea anomala* sehr nahe steht, dessen Sporen indessen nur 1,5 μ, d. h. etwa $^1/_4$ so groß sind wie die von *Glugea anomala*. Wir müßten also ceteris paribus hier einen Polfadendurchmesser von < 0,017 μ und Wandstärken von < 0,008 μ (= 8 μμ) annehmen!

Der Nachweis so winziger organischer Strukturen hat ein biologisches und ein physikalisch-chemisches Interesse. Ein biologisches, weil danach die Frage, ob Organismen von solcher Kleinheit existieren, daß wir sie selbst mit unseren modernsten optischen Hilfsmitteln überhaupt nicht wahrnehmen können, ziemlich sicher im bejahenden Sinne beantwortet werden muß. So würde auch verständlich werden, daß bei manchen Infektionskrankheiten der optische Nachweis des Erregers zurzeit noch nicht geglückt ist. Aber auch für die Zwecke der physikalischen Chemie könnten obige Feststellungen einige Anhaltspunkte liefern. Denn mit den kleinsten der oben mitgeteilten Zahlen nähern wir uns bereits den hypothetischen Dimensionen der Moleküle und erreichen fast diejenige, welche Lobry de Bruyn [1]) für die lösliche Stärke angegeben hat (5 μμ), sowie die Größe der kleinsten, ultramikroskopisch sichtbaren Goldteilchen. Da wir es bei dem Polfaden mit einem Proteïn von chitinähnlicher Beschaffenheit zu tun haben, so drängt sich unwillkürlich die Frage nach der Größe des Eiweißmoleküls auf. Es ist nun nicht anzunehmen, daß die Wand jener kleinsten, elastischen Polfadenschläuche nur aus einer einzigen Lage von Eiweißmolekülen besteht, sondern mindestens müßten wir doch 3 Lagen, nämlich zwei Oberflächenschichten und eine Mittelschicht annehmen, und es würde also für das einzelne

---

[1]) Citiert nach Zsigmondy (1905).

Proteïnmolekül höchstens ein Platz von 2,6 $\mu\mu$ übrig bleiben. Wie mir Herr Kollege Prof. Dr. A. Thiel auf meine Anfrage in freundlichster Weise mitteilte, würde man, wenn man den Durchmesser eines kugelförmig gedachten Eiweißmoleküls zu 2,5 $\mu\mu$ annimmt und das Volumengewicht gleich 1 setzt, das Molekulargewicht des Eiweißes auf 500 000 zu schätzen haben. Nach dem Gesagten wäre das also der größte Wert, den diese Größe bei dem vorliegenden Eiweißkörper haben könnte. Wahrscheinlich wird man sie aber noch viel niedriger anzusetzen haben, da kaum anzunehmen ist, daß der Polfaden von *Glugea stempelli* die feinste, überhaupt vorkommende, organische Struktur darstellt. Da untere Grenzwerte für die Größe derartiger Moleküle chemisch-physikalisch viel leichter festzustellen sind als obere, so können die obigen Betrachtungen vielleicht dazu dienen, auf diesem schwierigen Gebiet etwas weiter zu kommen.

Nach dieser Abschweifung wollen wir das weitere Schicksal der Sporen verfolgen. Wie schon bemerkt, ist mit der Ausbildung der Sporenhülle das vegetative Wachstum und die Vermehrung des Parasitenindividuums abgeschlossen. So bleiben denn die Sporen da, wo sie aus den Meronten entstanden sind, zunächst ruhig liegen und da audauernd neue hinzukommen, so häufen sie sich schließlich in großen Mengen an. In Epithelzellen, die ja meist von der Basis aus infiziert werden, findet hier natürlich auch zuerst die Verwandlung der Meronten in Sporen statt, und es liegen die letzteren bei gleichzeitigem Vorkommen von Sporen und Meronten in einer Zelle daher stets an der Basis (Fig. 16, 20). Schließlich, wenn alles Nahrungsmaterial in der Zelle verbraucht ist, ist diese auch vollkommen von Sporen erfüllt. Nur der Kern [1]) und die äußerste Zellwandung bleibt übrig. Man kann daraus, daß die Parasiten letztere nicht aufzulösen vermögen, geradezu auf eine besondere chemische Natur dieser Außenwand, auf eine Zellmembran schließen. Zwischen den Sporenmassen im Innern der Zelle findet sich als Rest des verflüssigten Protoplasmas eine Flüssigkeit (in Fig. 18 gelb dargestellt), [2]) die bewirkt, daß die Sporenmasse bei Verletzung eines derartigen „Parasitensackes“ als milchige Flüssigkeit hervorfließt. Natürlich sucht sich der lebende Körper des Wirtes, soweit wie möglich, dieser abgestorbenen Zellen zu entledigen. Handelt es sich um ein Epithel, so wölbt sich die von den Parasiten erfüllte Zelle infolge von

---

[1]) Die Parasiten sind also keine Karyophagen, wie L. Pfeiffer (1891, p. 138) meint.

[2]) Diese Flüssigkeit ist wohl identisch mit der Zwischensubstanz, welche Balbiani (1866, p. 602) zwischen den Sporen von *Nosema bombycis* gefunden hat.

Quellungserscheinungen, die wohl darauf beruhen, daß dem osmotischen Druck kein „vitales“ Gegengewicht mehr in der Zelle entgegenwirkt, zunächst an der freien Fläche des Epithels immer mehr vor, wird schließlich aus dem Zellverbande ausgestoßen und gelangt als ein sich durch Oberflächenspannung kugelig abrundender Körper in den benachbarten Hohlraum, also, wenn es sich um eine Darmepithelzelle handelt, in das Darmlumen (Fig. 3). Diese abgestoßenen Zellen, welche man bei starker Infektion oft in großen Mengen im Darm finden kann, haben die Beobachter häufig veranlaßt, fälschlich von Cysten des *Nosema bombycis* zu sprechen (vgl. z. B. L. Pfeiffer 1888, 1891 p. 136, Fig. 59, 60; 1895 p. 52, Fig. 25, 26); sie sind es vornehmlich, welche dadurch, daß sie mit den Fäces ins Freie und auf das Futter gelangen, andere Raupen infizieren. Besonders eigenartige Verhältnisse ergeben sich am Hautepithel. Auch hier findet regelmäßig eine Ausstoßung der vollkommen von Sporen erfüllten Epithelzellen in Form derartiger „Pseudocysten“ statt; aber diese können natürlich nicht direkt ins Freie gelangen, sondern sie müssen während der Abscheidung der Chitincuticula in das Innere dieser abgelagert werden. Zunächst wird über allen Zellen eine kontinuierliche Cuticula abgeschieden, aber da an der Stelle, wo die erkrankte Zelle liegt, die Sekretionstätigkeit nicht in normaler Weise von statten geht, so erhält die hier produzierte Cuticula gleich von vornherein eine bräunliche Verfärbung, sie wird brüchig und zerfällt in ihren tieferen Schichten schließlich in kleine Stücke (Fig. 21), so daß mitten in der Cuticula eine Höhlung entsteht (Fig. 21). Nun wird die inzwischen ganz funktionslos gewordene, erkrankte Zelle abgestoßen, gerät in diese Höhlung und bleibt dort liegen, während die benachbarten Zellen sich an der betreffenden Stelle wieder zu festem Verbande zusammenschließen und unter der Höhlung nun auch wieder eine normale Cuticula abzusondern vermögen (Fig. 21). Die so mitten in die tote Cuticula hineinverlagerte Sporenmasse erhält dann meist eine ganz ähnliche gelbliche Verfärbung wie der nach außen von ihr liegende Teil der Cuticula (Fig. 21), und so kommen jene makroskopisch leicht wahrnehmbaren, schwarzbraunen Flecke zustande, die ja dem Seidenraupenzüchter als äußeres Merkmal der Pébrinekrankheit seit langem wohl bekannt sind (Fig. 1).[1]) Die degenerativen Veränderungen der Sporen im Innern der Cuticula

[1]) Ganz ähnlich verhalten sich natürlich die schwarzbraunen Flügelflecke der infizierten Schmetterlinge; so trifft man z. B. in der Nähe solcher Flecke stets Sporenmassen an.

sind vielleicht auf den dort herrschenden Mangel an Sauerstoff zurückzuführen; sie sind um so auffallender, als die Microsporidiensporen sonst den ungünstigsten äußeren Verhältnissen, z. B. Fäulnisprozessen jahrelang widerstehen können (s. darüber Lebert 1856—1857 p. 169, Béchamp 1866 p. 392, 1867 p. 873, Thélohan 1895 p. 298 sowie meine eigenen Angaben über die Sporen von *Thélohania mülleri*, 1902 p. 258).[1])

Vorgänge bei der Neuinfektion durch die Sporen; der Amöboidkeim.

Wie in vorstehendem Kapitel auseinandergesetzt wurde, bleiben die Sporen, nachdem sie eine Sporenhülle und zwei Kerne erhalten haben, unverändert, solange sie sich an ihrer Entstehungsstelle befinden. Erst nachdem sie passiv in den Darmkanal eines anderen Wirtes gelangt sind, gehen mit ihnen jene Veränderungen vor, welche nach meinen bisherigen Untersuchungen auch bei anderen Arten für die Vollreife der Microsporidienspore charakteristisch sind [2]): jeder ihrer beiden Kerne teilt sich noch einmal, und so wird der protoplasmatische Sporeninhalt vierkernig (Fig. 103—106, 108 109).[3]) Die Sporen verhalten sich also in dieser Hinsicht ebenso wie die von mir untersuchten Sporen der unserer Form auch sonst nahestehenden *Thélohania mülleri* (1902 p. 260 Fig. 108), aber anders als die Sporen von *Glugea anomala*, welche gleich im ersten Wirt die Vierkernigkeit erreichen (s. meine Arbeit 1904a, p. 292; 1904b, p. 27).[4]) Etwa gleichzeitig mit diesen Kernveränderungen oder nur wenig später wird dann der Polfaden ausgestülpt, und es erweist sich,

---

[1]) Auch die Angabe Krassilstschik's (1906 p. 359), daß die Pébrinesporen ohne Schaden den Darm von Sperlingen passieren können, gehört hierher. Daß allerdings, wie der Autor meint, diese Passage eine Verjüngung der Sporen bewirkt, möchte ich bezweifeln.

[2]) Durch diese Beobachtungen an *Nosema bombycis* und *Thélohania mülleri* (s. meine Arbeit 1902, p. 260) wird natürlich die Behauptung vieler Autoren widerlegt, daß die Sporen schon im Gewebe des ersten Wirtes zum Auskriechen gelangen könnten (Balbiani u. a. 1884, p. 158 für *Nosema bombycis*; Vaney und Conte 1901, p. 646 für die sog. Macrosporen von *Plistophora mirandellae*; Simond 1903, p. 1336 für *Nosema stegomyae* u. a.).

[3]) Bei der in Fig. 107 dargestellten Spore ist die Vierkernigkeit zweifelhaft; es steht aber auch nicht fest, ob diese Spore aus dem Darminhalt während einer Neuinfektion stammt.

[4]) Ebenso verhalten sich nach Perrin (1906b, p. 624, Fig. 46 u. 47) die Sporen von *Plistophora periplanetae*, sowie nach Mercier (1908) diejenigen von *Thélohania giardi*.

daß derselbe 32—34 μ lang ist, also viel länger, als Thélohan angegeben hat, der ihn (1895, p. 267, 358) auf 10—15 μ schätzte [1]); aber doch viel kürzer, als der von *Glugea anomala* (s. meine Arbeit 1904 b) [2]). Da es bisher immer nur durch künstliche Mittel möglich gewesen ist, bei Microsporidien das Austreten des Polfadens zu erreichen, so versuchte ich es auch zunächst mit dem früher von mir ausprobierten Verfahren (1902 p. 255), durch Jodtinktur; doch kam dabei die Ausstülpung niemals über ihr Anfangsstadium hinaus, indem an dem einen Pol der Spore ein kleiner stiftförmiger Fortsatz, der ausgestülpte, etwas verdickte Basalteil des Polfadens, sichtbar wurde (Fig. 110). Glatt ging dagegen die Ausstülpung des ganzen Polfadens nach Einführung der Sporen in den Darmkanal einer anderen Raupe vor sich, denn besonders am zweiten Tage nach der ersten Infektion (Inf.-Vers. B) konnte man hier zahlreiche Sporen mit vollkommen ausgeschleuderten Polfäden finden (Fig. 112, 113). [3]) Daß es sich bei dem Hervortreten des Polfadens in Wirklichkeit um Ausstülpung oder richtiger Umstülpung eines hohlen Schlauches handelt, ist ja von anderen Myxosporidien her bekannt; [4]) man kann aber auch an vorliegendem Objekt an kleinen Anzeichen erkennen, daß der Vorgang in der Tat so verläuft. So sieht man an der in Fig. 111 dargestellten Spore, bei welcher der Prozeß noch nicht ganz vollendet ist, an dem Polfaden mehrere kleine, wohl auf Unregelmäßigkeiten in der Umstülpung zu beziehende Nodositäten, wie ich sie auch bei *Thélohania mülleri* (1902 p. 255, 256 Fig. 87) und *Glugea anomala* (1904 b p. 29 Fig. 142) gefunden und ebenso gedeutet habe. Die eigentliche Ursache des Umstülpungsprozesses überhaupt dürfte ziemlich sicher in Quellungserscheinungen des Sporeninhaltes zu suchen sein. Einmal nämlich kann man häufig in solchen Sporen, die in den Darmkanal einer Raupe importiert sind, eine deutliche Vergrößerung des protoplasmatischen Sporeninhaltes

[1]) Wahrscheinlich bringt die Salpetersäure, welche Thélohan anwandte, nicht den ganzen Faden zur Ausstülpung.

[2]) Noch länger als der Polfaden dieser Form, der 150 μ erreicht, ist nach den Angaben von Cépède (1906) der Polfaden von *Plistophora macrospora*, der 225 μ messen soll.

[3]) Thélohan (1895, p. 304) hat übrigens einmal im Darm eines *Crenilabrus melops* Sporen einer unbekannten *Glugea*-Art gefunden, deren Polfäden ausgestülpt waren.

[4]) Siehe die Angaben Thélohan's (1895, p. 266, Fig. 61) über die Ausstülpung des Fadens bei den in dieser Hinsicht ein so günstiges Objekt darbietenden Sporen von *Sphaeromyxa Balbianii*.

beobachten (Fig. 103—106).[1]) Vermutlich wird auch die Wirkung der künstlichen Polfadenausstülpungsmittel wesentlich darauf beruhen, daß sie den Sporeninhalt zur Quellung bringen. Wie kommt aber etwas derartiges unter normalen Verhältnissen zustande? Solange die Sporen innerhalb der Zellen liegen, in denen sie entstanden sind, befinden sie sich in einer Salzlösung, welche im wesentlichen mit der sie selbst durchtränkenden isotonisch ist. Bei der Neuinfektion gelangen sie dann — oft nach einer längeren oder kürzeren Trockenperiode — in die Darmflüssigkeit einer Raupe, die jedenfalls ärmer an Salzen ist, als die Gewebeflüssigkeit, und es wird daher, falls die Sporenhülle eine halbdurchlässige Membran darstellt, durch Osmose Wasser in die Spore eintreten, und in dieser unter gleichzeitiger Quellung des Protoplasmas ein Druck entstehen, der dann den Polfaden zur Ausstülpung bringt. Ich will nicht behaupten, daß sich der Vorgang in dieser Weise restlos erklären läßt, sondern nur, daß osmotische Kräfte dabei beteiligt sind. Mit der Sicherheit und Verläßlichkeit eines rein chemisch-physikalischen Geschehens spielt sich die Polfadenausstülpung wohl nicht ab, da von den zahlreichen Sporen, welche eine Raupe mit infiziertem Futter aufnimmt, nach meinen Beobachtungen immer nur relativ wenige ihren Polfaden ausschnellen. Die Aufgabe des ganzen Polfadenapparates besteht vielleicht darin, die Spore am Epithel des Darmes zu verankern, damit sie nicht mit dem Strom des Darminhaltes fortgeschwemmt wird. In der Tat glaube ich in einem einzigen, günstigen Fall gesehen zu haben, wie ein allerdings schon von der Spore losgelöster Polfaden am Epithel hing. Wenn nämlich die Spore wirklich in dieser Weise verankert wird, so genießt sie die daraus sich ergebenden Vorteile doch nur sehr kurze Zeit, da der Polfaden sich schon bald nach seiner Ausstülpung vollständig von der Spore loslöst. Wenn man solche losgelösten Polfäden, die zunächst noch in unmittelbarer Nähe der Spore zu finden sind, aufmerksam betrachtet, so erkennt man an demjenigen Ende, mit dem sie zuletzt an der Spore befestigt waren, eine kleine, aber stets deutliche knopfförmige Verdickung (Fig. 116). Diese Basalverdickung dürfte in der Hauptsache nichts anderes sein als der Rest der durch die Quellung des Protoplasmas zusammengedrückten Polkapselmembran, die jedenfalls auch hier wie bei allen Myxosporidien die Polfadenspirale außen

[1]) Dasselbe ist auch besonders deutlich an den lebenden Sporen von *Glugea anomala* zu konstatieren, deren Polfaden bereits ausgestülpt ist (s. meine Arbeit 1904 b, Fig. 142—145).

umhüllt (s. Textfig. 1 auf p. 317. Vergl. hierzu auch Fig. 144 meiner Arbeit über *Glugea anomala* 1904 b, wo diese Kapsel noch innerhalb der Spore liegt, sowie mehrere ähnliche Figuren von Thélohan 1895, Fig. 128, 136, 142 u. a.) Außerdem dürfte aber auch derjenige Teil der Sporenhülle, an dem die Polkapsel unmittelbar befestigt ist, an der Bildung der knopfförmigen Endverdickung des losgelösten Polfadens beteiligt sein (cf. Textfig. 1); denn wenn man eine ihres Polfadens beraubte Spore untersucht, so findet man an demjenigen Pol, wo der Polfaden gesessen hatte, stets eine kleine, aber deutliche Öffnung (Fig. 114—118), die den Eindruck macht, als ob hier eine kleine Kalotte der Sporenhülle abgetragen sei.[1]) Die so entstandene Öffnung ist nun die Ausgangspforte, durch welche der protoplasmatische Sporeninhalt in Gestalt des sog. Amöboidkeimes die Schale verläßt. Die direkte Beobachtung dieses Vorganges ist allerdings mit den größten Schwierigkeiten verknüpft, da die Kleinheit der Objekte und die damit zusammenhängende, lebhafte Molekularbewegung die exakte Verfolgung von so minimalen Eigenbewegungsvorgängen fast unmöglich macht. Fig. 114, 115 und 116 stellen die besten Bilder dar, die ich bei wochenlangem Suchen erhalten habe, und bei den auf Fig. 114 und 115 dargestellten Stadien, welche schon 6 Stunden nach der ersten Infektion (Inf.-Vers. A) im Darminhalt einer Raupe beobachtet wurden, bin ich nicht ganz sicher, ob der Vorgang ganz normal verlief und nicht etwa durch den Druck des Deckglases ausgelöst war. Zwar daran, daß der Amöboidkeim tatsächlich durch das oben erwähnte kleine Loch am einen Ende der Sporenhülle herauskriecht, die dann als deutlich doppelt konturiertes Tönnchen übrig bleibt (Fig. 116—118), daß also die Sache sich äußerlich genau so abspielt, wie sie bereits Balbiani (1884 p. 159 Taf. 5 Fig. 2)[2]) dargestellt hat, besteht kein Zweifel; aber eine klare Einsicht in die sich dabei abspielenden, inneren Vorgänge war am lebenden Material nicht zu erlangen. Ich möchte daher auch nicht mit Sicherheit behaupten, daß die stark licht-

[1]) Ähnliches scheint auch von Hesse (1905 b) an der Spore von *Nosema vayssierei* beobachtet worden zu sein. Er sagt nämlich von dem die Mündung der Polkapsel tragenden Sporenpol: „cette extrémité semble coiffée d'un petit bouchon qui se détache lors de la dévagination du filament“.

[2]) Allerdings zeichnet Balbiani (l. c.) das Loch am Sporenpol etwas zu groß. Vgl. auch die ähnlichen Angaben L. Pfeiffer's (1888, p. 475, 477, 478, Fig. 4; 1891, p. 138, Fig. 59; 1895, Fig. 25) über das Ausschlüpfen des Amöboidkeimes von *Nosema bombycis*, sowie die meinigen (1902, p. 256, 259, Fig. 109) über den Vorgang bei *Thélohania mülleri*.

brechenden Körper, welche man in Fig. 114 und 115 innerhalb des Amöboidkeims sieht, die Kerne seien, obgleich es, wie wir gleich sehen werden, sehr nahe läge, bei Fig. 114 in dem oben liegenden Gebilde zwei verschmolzene Kerne und in den anderen beiden zwei zugrunde gehende Restkerne zu erblicken; denn es ist kaum anzunehmen, daß die in Frage stehenden Kerne des Amöboidkeimes, von denen innerhalb der lebenden Spore nicht das Geringste wahrzunehmen ist, nach dem Austritt des Keimes so deutlich werden, daß man sie ohne weiteres sehen kann. Aus diesen Gründen sind wir für die Erkenntnis der wichtigen Kernveränderungen, die sich während des Auskriechens am Amöboidkeim abspielen, leider in der Hauptsache auf die Kombination von gefärbten Dauerpräparaten angewiesen, wobei man, wenn man dabei auch die Kernverhältnisse der einzelnen Stadien erkennt, doch nie ganz vor Irrtümern bei der Deutung der Vorgänge geschützt ist. Nach langem vergeblichen Suchen ist es mir aber im vorliegenden Fall doch gelungen, so viele Anhaltspunkte für die Deutung zu gewinnen, daß dieselbe so gut wie sicher ist. Es ließen sich nämlich häufiger unter den zahlreichen Sporenhüllen, die man auch in Dauerpräparaten bemerkt, solche auffinden, in denen deutlich zwei dunklere, wandständige Punkte zu sehen waren (Fig. 119),[1]) und schließlich gelang es mir, eine leere Sporenhülle zu entdecken, in welcher sich diese beiden Punkte durch ihre Färbbarkeit mit Kernfarbstoffen als zwei unzweifelhafte, isolierte Kerne diagnostizieren ließen (Fig. 120). Ganz in der Nähe dieser augenscheinlich erst soeben von dem Amöboidkeim verlassenen Hülle lag dann ein sehr kleiner, deutlich zweikerniger Protoplasmakörper, der genau dieselbe, etwas längliche Form hatte, wie der von Balbiani (l. c.) im Moment des Ausschlüpfens abgebildete (Fig. 121).[2]) Es ist wohl kein Zweifel daran möglich, daß dies der soeben ausgeschlüpfte Amöboidkeim war. Derartige zweikernige Amöboidkeime von unregelmäßigerer Gestalt habe ich dann noch in mehreren Fällen gefunden (122—124), so daß die konstante Zweikernigkeit dieser jungen Stadien ebenfalls sichergestellt ist. Aus diesen Amöboidkeimen müssen dann unmittelbar die schon beschriebenen einkernigen Planonten (Fig. 125—127) hervorgehen, da sie sich sehr häufig noch in der unmittelbaren Nähe der leeren Sporenhüllen im Darminhalt vorfinden. Wir können die kleine

---

[1]) In diesem Fall könnte man allerdings an die Reste der beiden Schalenkerne denken.

[2]) Infektionsversuch B, 3 Tage nach der ersten Infektion.

Lücke, die hier in der Beobachtung besteht, nicht gut anders schließen, als dadurch, daß wir eine Verschmelzung jener beiden Kerne des Amöboidkeimes, also eine Copulation von Schwesterkernen [1]) annehmen, wie ich das auch bereits bei den anderen von mir untersuchten Microsporidien getan habe (1902 p. 262, 1904 b p. 27, 33). Für die Richtigkeit dieser Annahme spricht in erster Linie die Tatsache, daß zwei von den kurz vorher gebildeten Kernen des Amöboidkeimes zugrunde gehen, ein Vorgang, der wohl nur als eine Kernreduktion aufgefaßt werden kann, wie sie ja bei den Protozoen stets dem Geschlechtsakt unmittelbar voraufgeht. Ferner hat der leider so früh verstorbene Schaudinn mir, wie ich schon bei anderer Gelegenheit publiziert habe (1902 p. 262 Fußnote), einmal mündlich mitgeteilt, daß er bei *Nosema bombycis* eine Copulation der Amöboidkeime einer Spore direkt beobachtet habe. Da, wie ich mich genau erinnere, Schaudinn diese Beobachtung an einem Microsporid der Küchenschabe gemacht hat, so glaube ich zwar, daß ihm dabei *Plistophora periplanetae* Lutz et Splendore vorgelegen haben wird, aber der Vorgang dürfte auch bei *Nosema bombycis* höchstens insofern anders verlaufen, als die Protoplasmakörper der beiden copulierenden Schwesterzellen sich hier vor der Copulation nicht erst trennen. Der gewichtigste Grund für die Annahme eines Copulationsvorganges beim Amöboidkeim liegt aber darin, daß mehrere Forscher, welche sich neuerdings mit dem Geschlechtsakt der „phänocysten“ Myxosporidien beschäftigt haben (Schroeder 1907 p. 369, Keysselitz 1908 p. 266) in den ja viel leichter zu untersuchenden Amöboidkeimen derselben solche Autocopulationen beobachtet haben. Angesichts dieser Tatsachen hieße es wirklich den Skeptizismus zu weit treiben, wenn man noch daran zweifeln wollte, daß auch bei den Microsporidien, welche sich ja in vieler Hinsicht den Myxosporidien so ähnlich verhalten, der Geschlechtsakt in prinzipiell gleicher Weise verläuft. Vielleicht werden wir uns sogar bei dieser Gruppe noch für lange Zeit mit diesem Analogieschluß begnügen müssen, da es aus den oben angedeuteten technischen Gründen so gut wie ausgeschlossen erscheint, daß wir hier noch einmal genaueren Aufschluß über die Kernvorgänge am lebenden

[1]) Den jetzt häufig für derartige Vorgänge gebrauchten Ausdruck Autogamie möchte ich vermeiden, da wesentlich verschiedene Prozesse damit bezeichnet werden. Wie ich seinerzeit (1905, p. 3—5) auseinandergesetzt habe, wird man gut tun, auch hier wie sonst zwischen einer Copulation und einer Conjugation von Schwesterzellen resp. Schwesterkernen, also wenn man will, zwischen einer Autocopulation und einer Autoconjugation zu unterscheiden.

Amöboidkeim erhalten werden. Was den Ort des Ausschlüpfens anbelangt, so habe ich leider erst lange nach dem Abschluß der Infektionsversuche an konserviertem Material die Beobachtung machen können, daß sich sehr häufig leere Sporenhüllen und Amöboidkeime im Vorderdarm der Raupe finden (Infektionsversuch B, 2 Tage nach der ersten Infektion). Es scheint also, als ob das Sekret hier mündender Drüsen, vielleicht der Speicheldrüsen, bei dem Vorgang eine auslösende Rolle spielt. Spätere Untersuchungen über diesen Punkt könnten mit dieser Möglichkeit rechnen und dadurch vielleicht bessere Resultate erzielen. Von vornherein ist es ja auch wahrscheinlich, daß nicht Sekrete des Mitteldarmepithels, sondern solche von Vorderdarmdrüsen das Ausschlüpfen der Sporen verursachen, da andernfalls leicht möglich wäre, daß die im Mitteldarmepithel selbst entstandenen Sporen nach Ausstoßung in das Darmlumen schon im ersten Wirt ausschlüpften — was nach meinen Beobachtungen niemals vorkommt und auch für die Erhaltung und Verbreitung der Art keineswegs vorteilhaft wäre.

Die Deutung der vier Kerne des Protoplasmas der reifen Spore macht nach dem Gesagten keine weiteren Schwierigkeiten: zwei davon stellen die Amöboidkeimkerne oder Geschlechtskerne dar, die beiden anderen sind als Reduktionskerne aufzufassen, doch ist es möglich, daß außerdem noch Kernsubstanzen aus den Amöboidkeimkernen eliminiert werden; wenigstens habe ich in den reifen Sporen und Amöboidkeimen außer den 4 resp. 2 Kernen zuweilen noch kleinste, färbbare Bröckelchen im Protoplasma gefunden (Fig. 108, 122, 123).[1])

Die Infektionsversuche.

In Nachfolgendem will ich kurz protokollierend über die Ergebnisse der wichtigsten von mir angestellten künstlichen Infektionsversuche berichten. Die Methodik ist im Kapitel „Material und Untersuchungsmethoden“ bereits eingehend besprochen worden; es genügen hier kurze Hinweise.

Infektionsversuch A (begonnen am 28. Mai 1905).

1—1,5 cm lange Raupen von *Bombyx mori* wurden mit infizierten, zerschnittenen Maulbeerbaumknospen gefüttert. Auch bei den nach-

[1]) Die 5kernige Spore in Fig. 106 ist allerdings wohl eine Anomalie.

folgenden Fütterungen wurde infizierte Nahrung weiter verabreicht.

Zeit nach der ersten Infektion	Beobachtungen an lebendem Material (Ausstrichpräparate des Darmkanals)	Beobachtungen an konserviertem Material
6 Stunden	Unveränderte Sporen, solche mit ausgeschleudertem Polfaden und austretendem Amöboidkeim und leere Sporenhüllen.	
1 Tag	Scheinbar unveränderte Sporen.	
2 Tage		Einzelne Planonten zwischen den Mitteldarmepithelzellen.
3 „		Viele Planonten an der Basis von Mitteldarmepithelzellen; in einzelnen Zellen Merontenketten.
4 „	Viele Meronten.	Planonten.
5 „		Meronten, junge Sporen, in einem Fall viele anormale Planonten (?).
6 „	Viele Meronten, viele junge (birnförmige) Sporen, darunter eine mit teilweise ausgeschleudertem Polfaden.	
7 „	Meronten, unreife und reife Sporen.	Planonten, im Mitteldarmepithel und in anderen Organen viele Meronten und einige Sporen.
8 „	Junge Sporen.	

Infektionsversuch B (begonnen am 8. August 1905).

5 Tage alte Raupen von *Arctia caja* wurden mit infizierten Blättern des Löwenzahns gefüttert. Bis zum 11. August 1905 wurde weiter infiziertes Futter verabreicht.

Zeit nach der ersten Infektion	Beobachtungen an lebendem Material (Ausstrichpräparate des Darmkanals)	Beobachtungen an konserviertem Material
2 Tage	Scheinbar unveränderte Sporen, Sporen mit ausgestülptem Polfaden, leere Sporenhüllen teils mit daneben liegendem Polfaden. Planonten in Teilung.	Im Darmlumen: Sporen mit beginnnender Vierteilung der Kernmasse und Quellung des Protoplasmas. Vierkernige Sporen, leere Sporenhüllen, viele Planonten im Vorderdarm sowie zwischen den Epithelzellen des Mitteldarms. In einzelnen Mitteldarmepithelzellen Meronten.

Zeit nach der ersten Infektion	Beobachtungen	
	an lebendem Material (Ausstrichpräparate des Darmkanals)	an konserviertem Material
3 Tnge	Scheinbar unveränderte Sporen, leere Sporenhüllen, viele Meronten und einzelne birnförmige Sporen.	Im Darmlumen u. a. eine leere Sporenhülle mit 2 isolierten Kernen; dicht daneben ein zweikerniger Amöboidkeim. In Mitteldarmepithelzellen Meronten und unreife (birnförmige) Sporen.
4 „	Meronten, viele birnförmige Sporen.	Im Darmepithel und anderen Organen (Fettkörper) Meronten und unreife Sporen: an der Basis einzelner Darmepithelzellen reife Sporen.
5 „	Meronten, unreife und reife Sporen.	Im Vorderdarmlumen, aber auch überall sonst im Körper vereinzelte Planonten. In Zellen der verschiedensten Gewebe Meronten, unreife und reife Sporen.
8 „		Alle Gewebe von Meronten und Sporen durchsetzt.

Infektionsversuch C (begonnen am 17. Juli 1905).

1 mm lange Raupen einer Bivoltinrasse von *Bombyx mori* wurden bis zum 22. Juli 1905 mit infizierten Maulbeerbaumblättern gefüttert.

Zeit nach der ersten Infektion	Beobachtungen	
	an lebendem Material (Ausstrichpräparate des Darmkanals)	an konserviertem Material
6 Tage		Viele Meronten und junge Sporen.
9 „		Im Darmlumen Planonten. In Darmepithelien und anderen Geweben, Meronten und junge Sporen.
10 „	Viele Meronten und junge Sporen.	Viele Meronten und junge Sporen.
11 „		Im Darmlumen einzelne zweikernige Amöboidkeime, im übrigen Körper viele Planonten und Meronten.

Infektionsversuch D (begonnen am 5. Mai 1905). 2 cm lange Raupen von *Bombyx mori* wurden mit infizierten Maulbeerbaumblättern gefüttert.

14 Tage nach der ersten Infektion: zahlreiche reife Sporen in allen Organen.

Allgemeine Beziehungen zwischen Parasit und Wirt.

Die im voraufgehenden Kapitel mitgeteilten Ergebnisse einiger Infektionsversuche lassen zunächst die überraschende Tatsache hervortreten, daß der ganze Entwicklungscyclus von Spore zu Spore sich in knapp vier Tagen abspielen kann. Am ersten Tage, vielleicht schon wenige Stunden nach der ersten Infektion schlüpfen die ersten Amöboidkeime aus (Infektionsversuch A), am zweiten Tage findet man nicht nur die Planonten im Darm und auf der Wanderung ins Schizocöl (Infektionsversuch A und B), sondern es haben sich im Innern der Darmepithelzellen bereits vereinzelte Meronten festgesetzt (Infektionsversuch B), am dritten Tage sind schon die ersten unreifen (Infektionsversuch B) und am vierten schon die ersten reifen Sporen in den Darmepithelzellen anzutreffen (Infektionsversuch B). Nach etwa 8 Tagen sind nach starker Primärinfektion in allen Geweben viele Meronten und Sporen zu finden (Infektionsversuch B), und nach 14 Tagen sind alle Organe von reifen Sporen überschwemmt (Infektionsversuch D).

Diese Zahlen sind dadurch, daß die betreffenden Entwicklungsstadien tatsächlich auf Schnitten innerhalb der Zellen gefunden worden sind, ganz sicher gestellt. Denn natürlich kann man sich auf Befunde in Ausstrichpräparaten des Darmkanals nicht verlassen, da ja bei den Infektionsversuchen außer reifen Sporen auch alle möglichen anderen Entwicklungsstadien, wie junge Sporen, Meronten und Planonten unvermeidlicherweise mit verfüttert werden und deren Vorkommen in Darmausstrichen also nichts beweist. Diese Ungleichmäßigkeit des Infektionsmaterials erklärt auch, daß oft noch relativ lange nach der letzten Infektion sich frühe Entwicklungsstadien, wie z. B. Amöboidkeime in den Versuchstieren finden (Infektionsversuch C). Außerdem kommt hierfür in Betracht, daß sicher viele reife Sporen aus irgendeinem Grunde den Darmkanal einer Raupe wieder unverdaut verlassen und daß derartige Sporen, wenn sie mit den Fäces auf das Futter gelangen, noch lange nach Abschluß der künstlichen Infektion Neuinfektionen verursachen können (vgl. meine ganz ähnlichen Beobachtungen an *Thélohania mülleri* 1902 p. 259—261). Bei dieser Sachlage habe ich auch darauf verzichtet, nur eine einmalige künstliche Infektion bei den Versuchen vorzunehmen, da ich auf diesem Wege doch keine klareren Resultate, jedenfalls aber sehr viel weniger Beobachtungsmaterial erhalten hätte als bei der von mir vorgezogenen häufigen Wiederholung der Infektion.

Der überraschend schnelle Verlauf der Entwicklung von *Nosema bombycis* läßt mich nun auch nicht mehr daran zweifeln, daß meine seinerzeit an *Gammarus pulex* mit *Thélohania mülleri* angestellten Infektionsversuche (cf. 1902 p. 262) tatsächlich in 40 Tagen zu einer vollkommenen Durchseuchung der Gammari mit den Parasiten geführt haben; denn es ist nicht anzunehmen, daß sich diese Microsporidien sehr viel langsamer entwickeln als *Nosema bombycis*.

Überhaupt liegen bei vorliegender Form die Beziehungen zwischen Parasit und Wirt sehr ähnlich wie bei *Thélohania mülleri*. Beide Arten sind während der vegetativen Periode ihres Lebens reine Zellschmarotzer, und ein Unterschied besteht nur darin, daß *Thélohania mülleri* ausschließlich die Muskelzellen, *Nosema bombycis* aber alle Gewebszellen seines Wirtes bewohnt. Diese große Mannigfaltigkeit der Lebensbedingungen spricht sich bei letzterem auch in der größeren Vielgestaltigkeit der Merontenformen aus und bedingt manche Verschiedenheiten in der speziellen Zellinfektion. Handelt es sich um Epithelzellen, so müssen dieselben, da die Planonten ja im Blute leben, stets von der Basis der Zelle aus infiziert werden, und in der Tat findet man, wie erwähnt, hier nicht nur die sich anheftenden Planonten, sondern es spricht sich dieser Infektionsmodus auch noch später dadurch aus, daß bei stärker infizierten Zellen die ältesten Entwicklungsstadien immer an der Basis der Zelle liegen (Fig. 16, 20). Nur bei Darmepithelzellen kann ausnahmsweise auch einmal die Infektion an der dem Darmlumen zugekehrten Seite erfolgen. Wie die mit Parasitenmassen und den Resten des verflüssigten Protoplasmas angefüllten Epithelzellen schließlich aus dem Verbande der übrigen als „Pseudocysten“ ausgestoßen werden, und wie es dabei im Hautepithel zur Bildung der typischen Flecke kommt, ist bereits im Kapitel „Sporen“ ausführlich geschildert worden. Wie dem Seidenzüchter wohl bekannt ist, gibt es für das Auftreten dieser Flecke Prädilektionsstellen, z. B. die Umgebung der Stigmen, die Füße und der sogenannte Sporn der Raupe. Es ist dies dadurch zu erklären, daß alle die genannten Stellen gewissermaßen Winkel und Sackgassen des Stoffwechsels sind, in denen naturgemäß nicht eine so lebhafte Blutzirkulation stattfindet wie an anderen Stellen des Körpers, und wo sich infolgedessen die überall im Blut kreisenden Planonten am leichtesten festsetzen können. Umgekehrt werden solche Organe, die fortwährend in Bewegung sind, wie z. B. das Herz, Aussicht haben, relativ lange von den Parasiten verschont zu bleiben. Die Neuinfektion von Bindegewebszellen, Muskelfasern und ähnlichen Elementen beginnt natür-

lich irgendwo an der Außenseite der betreffenden Zellen (Fig. 17). Entsprechend der besonderen Struktur der Zellen erfolgt dann auch das Wachstum der Meronten; so findet man in Muskelfasern die ersten Meronten meist in Form langer Ketten, und auch die daraus hervorgegangenen Sporen liegen zunächst oft reihenweise hintereinander; erst später, wenn die Infektion eine allgemeinere geworden ist, größere Massen der Muskelsubstanz verflüssigt und resorbiert sind, resultiert eine gleichförmig breiige Masse, die nur noch von einzelnen stehen gebliebenen Muskelpfeilern und den anliegenden Kernresten durchzogen und außen von dem stets unverletzt bleibenden Sarcolemm umhüllt wird (Fig. 2, 18). Auch das Nervensystem wird zuweilen infiziert und auch hier dokumentieren sich die Parasiten als typische Zellschmarotzer, indem sie sich stets in den Ganglienzellen, nicht aber in der Punktsubstanz anhäufen.

Die große pathogene Bedeutung der Parasiten ist bekannt. Im einzelnen Fall werden Verlauf und Prognose der Krankheit vornehmlich davon abhängen, wie stark die Neuinfektion gewesen ist und wie lange sie angedauert hat. Bei sehr starken Infektionen, wie sie z. B. durch künstliche Versuche erzielt werden, gehen die Raupen sehr bald an den Parasiten zugrunde. Derartige Infektionen mit großen Parasitenmassen kommen aber unter normalen Verhältnissen nur sehr selten vor, sondern die Regel wird sein, daß überhaupt nur einige wenige Sporen, die zufällig aus den Exkrementen kranker Raupen auf das Futter gelangt sind, die ganze Neuinfektion vermitteln. Solchen schwachen Primärinfektionen setzen die Raupen nun eine recht erhebliche Widerstandsfähigkeit entgegen. Die Sterblichkeit derartig infizierter Raupen ist relativ gering, die Tiere erreichen, besonders wenn die Erkrankung erst im späteren Alter eintritt, sehr häufig die Spinnreife, überstehen oft sogar die Verpuppung, und erst in der nächsten oder gar nächstnächsten Generation gehen die Individuen an der ererbten Krankheit zugrunde.[1]) Nach dem oben über die Lebensweise der Planonten und Meronten Gesagten ist dies leicht zu verstehen. Diejenigen Stadien, welche die Krankheit überall im Körper verbreiten, sind die Planonten, und von deren ursprünglicher Menge und Vermehrungsfähigkeit hängt es also in erster Linie ab, wieviel Zellen schnell von der Krankheit ergriffen werden, da ja die Meronten und die Sporen die einmal befallenen Zellen nicht wieder verlassen. Sind aber von vornherein nur wenige

[1]) Vgl. hierzu auch die ausführlichen Experimente und Angaben Pasteur's (1867 u. a.).

Planonten da, so können dieselben sich während des immerhin kurzen Lebens der Raupe nicht genügend vermehren, um so viele lebenswichtige Zellen zu infizieren, daß dadurch der Tod der Raupe oder des Schmetterlings bedingt wird. Günstiger für die Parasiten liegen die Dinge schon in der nächsten, erblich infizierten Generation. Wie bereits oben auseinandergesetzt, gibt es hier zwei Wege der Infektion: einmal nämlich wachsen die Meronten, welche zwischen den reifen Sporen in der Eizelle übrig bleiben, direkt in die sich bildenden embryonalen Zellen hinein, und ferner werden sich die reifen Sporen des Ei-Innern nach Abschluß der Entwicklung so verhalten, wie sie sich immer verhalten, wenn sie in den Darminhalt einer Raupe gelangen, d. h. sie werden ihre Amöboidkeime austreten lassen, und diese werden dann Planonten aus sich hervorgehen lassen. Daß ersterer Modus der „erblichen Infektion" gar nicht so selten ist, könnte man vielleicht daraus entnehmen, daß bei jungen erblich infizierten Raupen die Darmepithelzellen zuweilen nur wenig, weit davon entfernt liegende Organe, wie das Nervensystem, aber oft bereits sehr stark von den Parasiten befallen sind. In jedem Falle werden aber bei erblicher Übertragung der Parasiten immer sehr zahlreiche Parasiten-Individuen vorhanden sein, es können hier also ganz ähnliche Masseninfektionen eintreten wie bei künstlichen Versuchen und es stellt sich die Prognose der Krankheit für die erblich infizierte Generation viel ungünstiger als für deren Eltern. Ich habe einzelne Fälle gesehen, wo das Mitteldarmepithel der jungen, soeben erst ausgeschlüpften Raupen bereits vollkommen von den Parasiten erfüllt war, wo also an eine Ernährung überhaupt nicht zu denken war.

Nächst der absoluten Menge, in der die Parasiten bei der Primärinfektion eingeführt werden, ist für den Verlauf der Krankheit aber auch entscheidend, an welchen Stellen des Körpers sich die Planonten zuerst in größerer Zahl festsetzen. Meistens wird ja das Darmepithel schon infolge seiner Lage zuerst ergriffen und damit die Ernährung der Raupe sogleich gestört werden; doch braucht das keineswegs die Regel zu sein. So habe ich einmal bei einer Puppe den ganzen Körper mit Einschluß der Ovarien sehr stark von den Parasiten durchseucht gefunden, nur das Darmepithel war relativ wenig angegriffen.[1]) Hier hatte also nicht die geringe Anzahl der

[1]) L. Pfeiffer dürfte also kaum im Recht sein, wenn er (1891, p. 135) sagt, eine Darminfektion ginge stets derjenigen des übrigen Körpers vorauf. Ob bei *Attacus Pernyi* der Darmkanal eine absolute Prädilektionsstelle für die Parasiten darstellt, wie Balbiani (1884, p. 165, 166 Fußnote) und L. Pfeiffer (1895, p. 51) meinen, kann ich nicht beurteilen, halte es aber nach meinen Erfahrungen an

ursprünglich eingeschleppten Keime dem Individuum ein längeres Leben verstattet, sondern nur der Umstand, daß bei der wahllosen Verteilung der Planonten das Darmepithel gerade weniger in Mitleidenschaft gezogen worden war. Aus demselben Grunde ist es auch möglich, daß eine Raupe, deren Haut bereits die bekannten, schwarzen Flecke zeigt, in Wahrheit weniger Parasiten beherbergt, als eine andere, die nur deswegen, weil ihr Hautepithel verschont blieb, äußerlich gesunder aussieht. Ob eine Raupe zum Einspinnen kommt oder nicht, wird natürlich lediglich von dem Grad der Infektion ihrer Spinndrüsen abhängen. Auch für die Entwicklungsfähigkeit der infizierten Eier ist die Lage der Parasiten in der Eizelle von ausschlaggebender Bedeutung. Es ist von Interesse, daß hier häufig eine für die Ausbreitung der Parasiten ja vorteilhafte Schonung des Embryos stattfindet. Wie schon oben erörtert, liegen die Parasiten, welche man auch in unbefruchteten Eiern oft massenweise antrifft, meist zentral in der Dottermasse (Fig. 19*p*), also gerade da, wo sie der Entwicklung des Embryos am wenigsten hinderlich sind. Es scheint auch, als ob die Vermehrung der hier stets vorkommenden Meronten während der Winterruhe des Eies vollkommen sistiert wird, so daß eine höchst merkwürdige Übereinstimmung zwischen Parasit und Wirt besteht, die gleichzeitig eine Ausnahme von dem sonst von den Parasiten befolgten Verfahren darstellt, einmal befallene Zellen schnell vollkommen zu erfüllen. Erst wenn die Eier zwecks Vollendung der Entwicklung der Bruttemperatur ausgesetzt werden, erwachen auch die Parasiten aus ihrem „Winterschlaf“. Immerhin habe ich einzelne Fälle beobachtet, in denen schon vor der Bebrütung der Eier eine relativ starke Infektion der Embryonalzellen mit Sporen bestand. Diese Fälle sind noch außerdem dadurch von Interesse, als ja hier keine intercellulären Planonten, sondern nur Meronten jene Infektion vermittelt haben können; sie beweisen dadurch ohne weiteres das Vorkommen solcher direkten Übertragung — es sei denn, daß man die ganz unwahrscheinliche Annahme machen wollte, jene Sporen seien von den Embryonalzellen umwachsen worden.

Eine für die Praxis der Seidenraupenzucht sehr wichtige Frage ist die, ob eine natürliche Immunität gegen die Krankheit bei den

Bombyx mori und *Arctia caja* für sehr unwahrscheinlich. Möglich wäre auch, daß eine andere *Nosema*-Art die Krankheit des *Attacus Pernyi* verursachte. Bei dem mir vorliegenden Pfeiffer'schen Material (aus Nordhausen) finden sich die Parasiten jedenfalls auch in der Muskulatur, ihr Sporenprotoplasma ist aber etwas anders gestaltet als das der übrigen mir vorliegenden Parasiten (s. Fig. 94 u. 95).

Raupen vorkommt. Nach den Erfahrungen, welche in neuerer Zeit mit andern krankheitserregenden Protozoen gemacht worden sind, ist es recht wahrscheinlich, daß eine solche Immunität in der Tat existiert. Da die ersten Stadien, welche in den Körper des Wirtes hineingelangen, die Planonten, nackte, allen chemischen Einflüssen des Raupenblutes preisgegebene Formen sind, so ist es sehr wohl denkbar, daß die Raupe sich durch Erzeugung bestimmter Schutzstoffe gegen diese Parasiten ebenso gut verteidigen könnte, wie gegen viele andere. Ich habe schon bei der Besprechung der „anormalen Planonten" auf diese Möglichkeit hingewiesen. Sehr zu denken gibt jedenfalls die Tatsache, daß die japanischen Seidenspinner-Rassen der Pébrine nicht so sehr unterworfen sind, wie die europäischen. So sagt BOLLE in seiner Schrift über den Seidenbau in Japan (1898 p. 56):

„Merkwürdigerweise aber haben die dortigen Aufzuchten an diesem Schmarotzer nicht sonderlich zu leiden, obschon die Verseuchung so allgemein ist, daß Körperchen-freie Industrialgrainskartons nur schwer aufzutreiben sind. Dies gilt auch von jener Zeit, wo die Einfuhr von japanischen Samenkartons nach Europa florierte, indem die importierten Grains trotz ihrer Verseuchung einen wenn auch nicht vollen, doch immerhin lohnenden Ertrag lieferten, und es fehlte damals nicht an Seidenbauern, die da behaupteten, die Körperchen täten den Raupen nichts zuleide, zumal sie auch an vollends gesund aussehenden Raupen wahrzunehmen seien."

Es liegt hier der Gedanke nahe, daß die japanischen Seidenraupenrassen wirklich eine größere natürliche Immunität gegen die Schmarotzer bewahrt haben als die europäischen; sonst wäre nicht einzusehen, wie die japanische Seidenzucht bisher von so verheerenden Pébrine-Epidemien verschont bleiben konnte, wie sie die europäische Seidenzucht in den 50er und 60er Jahren des vergangenen Jahrhunderts durchgemacht hat. Wie fürchterlich diese Epidemien unter den Zuchten gewütet haben, ersieht man am deutlichsten daraus, daß die französische Seidenproduktion allein während der Jahre 1854—1867 durch die Pébrine eine Milliarde Francs Schaden erlitten hat (QUATREFAGES 1868 p. 429). Es ist das große Verdienst PASTEUR's, daß er durch das von ihm angegebene und 1871 vom österreichischen Ackerbau-Ministerium preisgekrönte Verfahren der sog. Zellengrainierung der europäischen Seidenzucht die Möglichkeit gegeben hat, der Pébrine wirksam vorzubeugen. Dasselbe ist auf der Tatsache der Vererblichkeit der Krankheit begründet und besteht im wesentlichen darin, daß alle Schmetterlinge, deren Abkömmlinge

zur Nachzucht verwendet werden sollen, nach ihrem Absterben einer genauen mikroskopischen Untersuchung auf Pébrine-Sporen unterzogen werden. Finden sich solche in ihnen, so werden die von ihnen erzeugten Eier von der Nachzucht ausgeschlossen und vernichtet. Dieses Verfahren wird bekanntlich heute in vielen seidenbautreibenden Ländern in großem Maßstabe durchgeführt und hat die besten Erfolge gezeitigt. Wir verdanken ihm, daß die Sterblichkeit der Raupen an Pébrine in Europa erheblich zurückgegangen ist, und daß sich die Coconproduktion infolgedessen stark — in Südösterreich z. B. um das Dreifache — vermehrt hat. Aber die großen Erfolge der Zellengrainierung, deren Beibehaltung und konsequente Durchführung auch weiterhin dringend geboten ist, dürfen uns nicht abhalten, auch die Nachteile, die dieses Verfahren für die Züchtung widerstandsfähiger Rassen haben könnte, ernstlich ins Auge zu fassen. Denn es ist nicht zu leugnen, daß sie dem wichtigsten Züchtungsmittel, der Selektion, in gewissem Sinne gerade entgegenarbeitet. Werden doch durch diese Methode unsere ohnehin gegen die Pébrine sehr empfindlichen europäischen Raupenrassen dauernd und konsequent der Einwirkung der Krankheitserreger entzogen. Alle, nicht nur die in dieser Hinsicht widerstandsfähigsten Individuen, pflanzen sich fort, und so ist es unmöglich, eventuell vorkommende immune Individuen zu erkennen, zu isolieren und deren Eigenschaften durch Weiterzüchtung zu steigern. Es wäre daher sehr wünschenswert, wenn die staatlichen Seidenbau-Versuchsstationen mit unseren, in vieler Hinsicht so ausgezeichneten Seidenspinnerrassen ausgedehntere, rationelle Züchtungsversuche nach der angedeuteten Richtung hin anstellten; könnte man doch auf diesem Wege vielleicht einmal dahin gelangen, die vor der Hand unentbehrliche, aber jedenfalls umständliche und kostspielige Zellengrainierung ganz zu vermeiden.

Bemerkungen über vergleichende Morphologie, Systematik und Phylogenie der Microsporidien.

Wenn man die Morphologie und Entwicklungsgeschichte von *Nosema bombycis* mit derjenigen anderer genauer untersuchten Microsporidien vergleicht, so springt in erster Linie die große Ähnlichkeit zwischen der vorliegenden Art und der von mir früher untersuchten (1901, 1902) *Thélohania mülleri* in die Augen. Beide sind während

der vegetativen Periode ihres Lebens Zellschmarotzer, bei beiden findet die vegetative Vermehrung durch isolierte, einkernige Meronten statt, bei beiden verwandeln sich diese schließlich in Sporen, die, zunächst zweikernig, erst nach dem Import in den Darmkanal eines anderen Wirtes die definitive Vierkernigkeit erlangen. Diesen gemeinsamen Zügen gegenüber sind die Verschiedenheiten untergeordneter Natur: *Nosema bombycis* lebt in den verschiedenartigsten Zellen seines Wirtes, und infolgedessen zeigen seine Meronten eine größere Multiformität als die nur in Muskelzellen schmarotzenden Meronten der *Thélohania mülleri*, ferner entsteht bei *Nosema bombycis* aus jedem Meronten normalerweise schließlich nur eine Spore, bei der *Thélohania* dagegen gehen acht daraus hervor, und es kommt dadurch zur Ausbildung eines Zwischenstadiums der Sporonten. Ganz ähnlich wie *Thélohania mülleri* entwickeln sich nach neueren Untersuchungen anderer Forscher auch die übrigen *Thélohania*-Arten (z. B. *Th. maenadis* Pérez 1904, p. 214—216 u. a.), während eine andere von Pérez (1905a, p. 146—148) in der Muskulatur von *Carcinus maenas* gefundene Microsporidie, *Nosema pulvis* Pérez, sich im wesentlichen ebenso wie *Nosema bombycis* zu verhalten scheint, da nach den Angaben Pérez' aus jedem Meronten nur eine Spore hervorgeht. Wir hätten so bei den bisher besprochenen *Nosema*- und *Thélohania*-Arten zwei ähnliche Typen der Microsporidienentwicklung, denen als dritter Typus wahrscheinlich noch die *Gurleya*-Arten (siehe z. B. Doflein 1898) anzuschließen sind, bei denen vier Sporen in einem Sporonten entstehen.

Dadurch daß alle diese Formen Zellschmarotzer sind, unterscheiden sie sich schon biologisch von einer anderen Gruppe von Microsporidien, welche wie die phänocysten Myxosporidien entweder in Körperhöhlungen leben oder in Geweben große, vielkernige Protoplasmamassen bilden. In Körperhöhlen, nämlich im Lumen der Malpighischen Gefäße von *Periplaneta orientalis*, lebt z. B. nach den Angaben Perrin's (1906a und 1906b) *Plistophora periplanetae* (Lutz et Splendore). Hier sind die Meronten im erwachsenen Zustand vielkernig, und es bildet sich eine Sporontengeneration aus, in deren einzelnen Individuen viele — bis über 40 — Sporen entstehen. Derartigen Formen sind außer vielen anderen noch ungenügend bekannten *Plistophora*-Arten [1]) sicherlich auch manche bisher zu der Gattung *Nosema* gestellte Arten anzuschließen. So z. B. das pseudopodienbildende *Nosema marionis* (Thélohan 1895, p. 360

[1]) Siehe Labbé 1899, p. 105.

Fig. 14), in dessen amöbenähnlichem Protoplasmakörper durch endogene Knospung direkt Sporen entstehen. Um einen klareren Überblick über die Morphologie der Microsporidien zu gewinnen, schlage ich vor, für letzteren, wie wir noch sehen werden, wichtigen Formtypus die Gattung *Mariona* aufzustellen, als deren typischer Vertreter also *Mariona marionis* (THÉL.) zu gelten hätte. In die Nähe dieser Formen dürfte auch die von MRÁZEK (1897) aufgestellte und neuerdings von HESSE (1905a) an einer neuen Art beschriebene Gattung *Myxocystis* zu stellen sein, da auch hier im Innern eines freien vegetativen Stadiums die Sporen entstehen.

Durch die Vielkernigkeit ihrer vegetativen Stadien und die große Zahl der gleichzeitig in einem derartigen Individuum gebildeten Sporen leiten die *Plistophora-*, *Mariona-* und *Myxocystis-*Arten von den anfangs besprochenen *Nosema-*, *Thélohania-* und *Gurleya-*Arten zu denjenigen Formen über, welche große Gewebstumoren bilden. Als Typus für diese Gruppe kann der von mir (1904a und 1904b) genauer untersuchte Parasit der Stichlinge gelten, den man nach dem früheren, unzulänglichen Stande unserer Kenntnisse in der Gattung *Nosema* untergebracht hatte. Wie die vorliegende Arbeit deutlich zeigt, weicht indessen die Morphologie der typischen Art *Nosema bombycis* so wesentlich von derjenigen der Stichlingsparasiten ab, daß es nötig erscheint, die letzteren als Angehörige einer besonderen Gattung aufzufassen. Da der Gattungsname *Nosema* zuerst von NAEGELI (1857) für *Nosema bombycis* aufgestellt wurde, so wäre als Gattungsname für die Stichlingsparasiten die von THÉLOHAN (1891) auch für diese zuerst angewandte Bezeichnung *Glugea* zu wählen, und sie wären demnach *Glugea anomala* (MONIEZ) zu benennen (vgl. auch PÉREZ 1905a, p. 147). Wie ich in meiner oben citierten Arbeit gezeigt habe, findet bei dieser Art keine vegetative Vermehrung der Individuen durch Merontenteilung statt, sondern das vegetative Stadium wächst ungeteilt zu großen, encystierten, vielkernigen Protoplasmakörpern heran, die in ihrem Innern durch endogene Knospungsprozesse Sporonten entstehen lassen, welche sich ihrerseits in vierkernige Sporen umwandeln, während das Protoplasma des großen, die Cyste ausfüllenden Mutterindividuums ebenso wie die Reste der vegetativen Kernsubstanz allmählich zugrunde gehen.[1]) Sehr nahe verwandt mit

[1]) Wie SCHRÖDER (1909 p. 130), der niemals selbst eine *Glugea*, sondern nur eine *Thélohania* untersucht hat, kurzweg behaupten kann, die von mir und mehreren anderen Autoren (siehe oben) beschriebenen vegetativen Kerne der großen Cysten wären seiner „festen Überzeugung“ nach Kerne von Wirtszellen, ist wohl nur dadurch zu erklären, daß dieser Autor die von ihm beobachtete, längst bekannte

dieser Art ist die von Pérez (1905 b, p. 151; 1905 c, p. 15, Fig. 14) in *Balanus amaryllis* gefundene *Glugea stempelli*,[1]) welche ebenfalls große Cysten bildet und bei der sich nach Pérez dieselbe Struktur und Entwicklungsweise findet. Eine andere nahestehende Art ist die neuerdings von Pérez (1908) beschriebene *Duboscquia legeri*, die sich von den *Glugea*-Arten nur dadurch unterscheidet, daß jeder Sporont die konstante Anzahl von 16 Sporen aus sich hervorgehen läßt.

Nach den durch obige Vergleichung gegebenen Anhaltspunkten läßt sich nunmehr an Stelle der mehr provisorischen Systeme von Thélohan (1895, p. 355) Doflein (1898, 1899, p. 18) und Minchin (1903) ein dem jetzigen Stande der Forschung adäquates System der Microsporidien aufstellen, wenn man die Form und Entwicklung der vegetativen Stadien als Familiencharakter, die weniger wichtige, spezielle Art der Sporenbildung als Gattungscharakter und die Form der Sporen als Artcharakter verwendet. Ich schlage folgende Einteilung für die Ordnung der Microsporidien vor:

Microsporidia.

1. Nosematidae: vegetative Stadien intracelluläre einkernige, sich teilende Meronten.[2])

Nosema (Nägeli 1857): aus jedem Meronten geht eine Spore hervor.

Beispiele: *Nosema bombycis* Nägeli.
Nosema pulvis Pérez.

Tatsache, daß bei der *Thélohania*-Infektion die Kerne der befallenen Wirtszellen mitten zwischen den Parasiten liegen, willkürlich auf die anderen, ihm unbekannten Gruppen überträgt. Wie sehr man sich vor derartigen, apodiktischen Verallgemeinerungen zu hüten hat, sollte eigentlich die Geschichte der neueren Protozoenforschung zur Genüge gelehrt haben!

[1]) Ich möchte nicht verfehlen, Herrn Kollegen Pérez für die Ehre, die er mir durch die Benennung dieser Art erwiesen hat, an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

[2]) Zu den Nosematiden gehören vermutlich: *Plistophora helminthophthora* Kef. (Keferstein 1862, p. 136, Fig. 1), ferner wohl viele der leider nur nach den Sporen unterschiedenen *Nosema*-Arten von Lutz et Splendore (1903), und endlich die *Thélohania*-Arten, wie *Th. octospora* (Henneguy 1888), *Th. Giardi* (Henneguy et Thélohan 1892 a), *Th. légeri* (Hesse 1904 a u. b), *Th. pinguis* (Hesse 1903 b), *Th. janus* (Hesse 1903 b), *Th. cepedei* (Hesse 1905 b), *Th. chaetogastris* (Schröder 1909) u. a. Wahrscheinlich ist die Zahl der Gattungen auch größer als drei, da es jedenfalls Formen geben wird, die mehr als vier oder acht Sporen zugleich produzieren.

Thélohania (Henneguy et Thélohan 1892): aus jedem Meronten gehen durch Vermittlung eines Sporonten 8 Sporen hervor.

Beispiele: *Thélohania mülleri* (L. Pfeiffer).
Thélohania maenadis Pérez.

Gurleya (Doflein 1898): aus jedem Sporonten entstehen 4 Sporen.

Beispiele: *Gurleya tetraspora* Doflein.
Gurleya legeri Hesse (1903a).

2. Plistophoridae: vegetative ausgewachsene Stadien vielkernige, oft amöboid bewegliche Meronten.[1])

Plistophora (Gurley 1893): Die vegetativen Stadien verwandeln sich in abgerundete Sporonten, aus denen viele Sporen hervorgehen.

Beispiel: *Plistophora periplanetae* (Lutz et Splendore).

Mariona nov. gen.: Die Sporen entstehen durch endogene Knospung im Protoplasma der amöboid beweglichen vegetativen Stadien.

Beispiel: *Mariona marionis* (Thél.).

Myxocystis (Mrázek 1897): Die Sporen entstehen durch endogene Knospung im Protoplasma des vegetativen Stadiums, dessen Ektoplasma aus unbeweglichen Cilien besteht.

Beispiele: *Myxocystis ciliata* (Mrázek 1897).
Myxocystis mrazeki (Hesse 1905a).

3. Glugeidae: Vegetatives Stadium vielkernig, unbeweglich, ungeteilt bleibend, encystiert. Die Sporonten entstehen in ihm durch endogene Knospung.[2])

Glugea (Thélohan 1891): Zahl der aus einem Sporonten entstehenden Sporen wechselnd.

Beispiele: *Glugea anomala* (Moniez).
Glugea stempelli Pérez.

---

[1]) Zu den Plistophoriden sind wahrscheinlich zu ziehen: *Nosema stegomyae* (Simond 1903, p. 1335ff.), *Nosema bryozoides* (Korotneff 1892), *Plistophora schmeili* (?) (L. Pfr.) (cf. Schewiakoff 1894, p. 21), *Plistophora mirandellae* (Vaney et Conte 1901, p. 645), *Plistophora macrospora* (Cépède 1906).

[2]) Zu den Glugeiden sind wohl zu zählen: *Glugea gigantea* (Thélohan 1895, p. 164, 359), *Glugea punctifera* (Thélohan 1895, p. 218, 357, Fig. 118, 119), *Nosema stephani* (Hagenmüller 1899, Woodcock 1904), *Glugea destruens* (Thélohan 1891, 1895, p. 172, 173, 357, Fig. 120—122), *Glugea lophii* (Doflein 1898), *Nosema longifilum* (Hesse 1905b). Auch hier dürfte die Creierung noch weiterer Gattungen nach der Sporenzahl bevorstehen.

Duboscquia (Pérez 1908): Aus einem Sporonten entstehen stets 16 Sporen.

Beispiel: *Duboscquia légeri* Pérez.

Dieses System deckt sich mit dem neuerdings von Pérez (1905c, p. 17) vorgeschlagenen nur hinsichtlich der Trennung der Gattungen *Nosema* und *Glugea*, weicht aber hinsichtlich der Unterbringung der Gattungen in Familien stark von ihm ab, da Pérez in Anlehnung an das Doflein'sche System (1898, 1899) und das fast gleiche von Minchin (1903) die Zahl der in einem Individuum gebildeten Sporen als Familiencharakter verwendet hat. Ich halte diese Einteilungsart deswegen nicht für glücklich, weil man zur Schaffung eines natürlichen Systems doch immer bestrebt sein muß, die phylogenetisch wichtigsten Charaktere für die Kennzeichnung der Obergruppen zu verwenden, und die weniger wichtigen für die Untergruppen aufzusparen, denn andernfalls würde man leicht in den Fehler verfallen, Konvergenzerscheinungen als systematisch wichtige Merkmale zu behandeln. Die Zahl und Bildungsweise der Sporen ist aber wohl nur ein sekundärer Charakter, während der Morphologie der vegetativen Stadien eine größere morphologische Bedeutung zukommen dürfte, wie im nächsten Absatz noch eingehender begründet werden soll.[1]) Aus diesem Grunde habe ich letztere als Familiencharakter aufgefaßt und erstere nur zur Kennzeichnung der Gattungen verwendet.

Phylogenetisches. Es dürfte ziemlich sicher sein, daß die Microsporidien sich ebenso wie auch die sogenannten phänocysten Myxosporidien von freilebenden, amöbenähnlichen Sarcodinen herleiten. Suchen wir nun unter den uns bekannten Microsporidienformen nach solchen, welche noch die meisten Züge jener Stammform bewahrt haben, so finden wir, daß solche amöbenähnlichen Gestalten als Regel nicht häufig sind, daß sie aber interessanterweise als Anomalien hier und da auftreten. Ich selbst habe wenigstens bei allen von mir bisher genauer untersuchten Arten solche meist amöboid beweglichen, relativ großen Formen stets nur als Anomalien gefunden. Dieselben sind auch dadurch angezeichnet, daß in ihrem Protoplasmakörper Sporen direkt durch endogene Knospung entstehen, ohne daß das vegetative Leben des Individuums darin seinen Abschluß findet, da meist nur ein kleiner Teil des

[1]) Neuerdings (1908, p. 632) neigt sich auch Pérez dieser Ansicht zu. So schlägt er für die Glugeiden die Bezeichnung „Blastogènes" vor und stellt diesen die Nosematiden als „Schizogènes" gegenüber. Leider bleiben bei dieser Einteilung aber die Plistophoriden ganz unberücksichtigt.

Protoplasmas an dem Sporenbildungsprozeß beteiligt ist. Derartige Formen habe ich bei *Thélohania mülleri* (1902, p. 248, Fig. 103—105) und auch — wie oben im Kapitel „Meronten" auseinandergesetzt (s. auch Fig. 64) — bei *Nosema bombycis* — als anormale Meronten aufgefaßt und bezeichnet; ich habe ganz analoge Formen aber auch bei einer in Bau und Lebensweise von diesen beiden Arten so weit abweichenden Species wie *Glugea anomala* gefunden und festgestellt, daß ihnen hier die wichtige Aufgabe zufällt, als „sekundäre Protoplasmakörper" nach Auflösung der großen Tumoren für die Weiterverbreitung der Parasiten im Wirtskörper zu sorgen (1904a u. b).[1] Auch die „formes grégariennes", welche Pérez (1905c, p. 11) bei *Thélohania maenadis* gefunden hat, dürften hierher gehören. Angesichts der weiten Verbreitung derartiger Gebilde und ihrer Amöbenähnlichkeit, drängt sich geradezu die Vermutung auf, daß sie atavistische Formen sind.[2]) Diese Annahme wird nun noch wahrscheinlicher dadurch, daß vermutlich Microsporidienarten existieren, deren vegetative Stadien die ursprüngliche Amöbengestalt zeitlebens beibehalten, wie z. B. die schon im vorigen Abschnitt erwähnte *Mariona marionis*. Augenscheinlich stehen derartige, frei in Körperhöhlungen ihrer Wirte lebende Formen der Stammform am nächsten, und die übrigen meist in Zellen und Geweben schmarotzenden Microsporidien haben sich erst aus ähnlichen Formen durch weitergehende Anpassung an die parasitäre Lebensweise entwickelt. Denn die Erzeugung von Sporen durch endogene Knospung während des vegetativen Lebens, durch welche sich die *Mariona*-ähnlichen Arten eigentlich allein von freilebenden Amöben unterscheiden, ist zwar bereits eine Anpassung an die parasitäre Lebensweise, die eine schnelle Erzeugung möglichst zahlreicher und widerstandsfähiger Keime erfordert, aber sie erreicht diesen Zweck doch nicht so vollkommen wie jene Vermehrungsarten, die wir bei der Mehrzahl der übrigen Microsporidien antreffen. Am nächsten steht ihr noch der bei *Plistophora periplanetae* festgestellte Vermehrungs- und Sporenbildungsmodus; doch auch hier ist im Interesse beider Prozesse bereits eine Arbeitsteilung eingetreten; die vegetative Vermehrung erfolgt nämlich durch Teilung und Knospung der vielzelligen vegetativen Stadien; zur

[1]) Dadurch, daß sich derartige Formen auch bei anderen Arten finden, ist ihre von mir (l. c.) etwas zweifelnd vorgebrachte Deutung als Parasiten natürlich so gut wie sichergestellt.

[2]) Vgl. auch die ähnlichen Ansichten Schaudinn's über die anormalen Formen der *Cyclospora caryolytica* (1902b p. 408).

Sporenbildung aber stellen diese das vegetative Leben ein und werden zu Sporonten, welche in viele Sporen zerfallen, während die sie umschließenden Protoplasma- und Kernreste zugrunde gehen.[1]) Bei den in Zellen und Geweben lebenden, sozusagen vollkommener parasitischen Nosematiden ist diese Arbeitsteilung und damit die Möglichkeit, schnell viele vegetative Stadien und viele Sporen zu erzeugen, noch vollkommener durchgeführt: die vegetativen Stadien bleiben hier klein, einkernig, vermehren sich in mannigfacher Weise durch Zweiteilung, Knospung und Vielteilung, bis der ganze verfügbare Raum besetzt ist; erst dann geht jeder Teilsprößling für sich zur Sporenbildung über, und wenn dabei mehrere Sporen gleichzeitig in einem Individuum erzeugt werden, so bleiben nur ganz geringfügige Reste des Protoplasmas unverwandt.[2]) So ist die endogene Knospung hier — wie auch bei anderen Sporozoen —[3]) zu der ja eine viel ausgiebigere Vermehrung garantierenden Vielteilung geworden. Einen ganz anderen Weg schlugen bei der Anpassung an das Gewebsschmarotzertum die Glugeiden ein. Hier fand während des vegetativen Lebens keine Zerteilung in kleine, überall vordringende Meronten statt, sondern der vielkernige Protoplasmakörper blieb an der einmal gewählten, günstigen Stelle des Wirtskörpers liegen und wuchs zu einem mächtigen Tumor heran. Da eine Verteilung der Funktionen des vegetativen Lebens und der Sporenbildung auf verschiedene Individuen unter diesen Umständen nicht möglich war, so wurde der ursprüngliche Zustand der endogenen Sporenbildung beibehalten, aber es bildete sich doch wenigstens eine scharfe Differenzierung der Kernmasse in vegetative Kern-

---

[1]) Wie ähnlich diese „Sporonten" der *Plistophora periplanetae* den von mir beschriebenen sekundären Protoplasmakörpern der *Glugea anomala* sind, zeigt recht deutlich ein Vergleich der Fig. 14, 30—32 Perrin's (1906 b) mit meinen Fig. 53—55 (1904 b).

[2]) Siehe meine Arbeit über *Thélohania mülleri* (1902, p. 253, Fig. 72 u. 73), sowie Hesse (1904 b) über *Th. légeri*. Bei anderen *Thélohania*-Arten werden sogar zwei Kerne — augenscheinlich die Repräsentanten der vegetativen Kernsubstanz — nicht mit in den Sporulationsprozeß einbezogen (cf. Thélohan 1895, Fig. 124, 125 und Pérez 1905 c p. 10 Fig. 10).

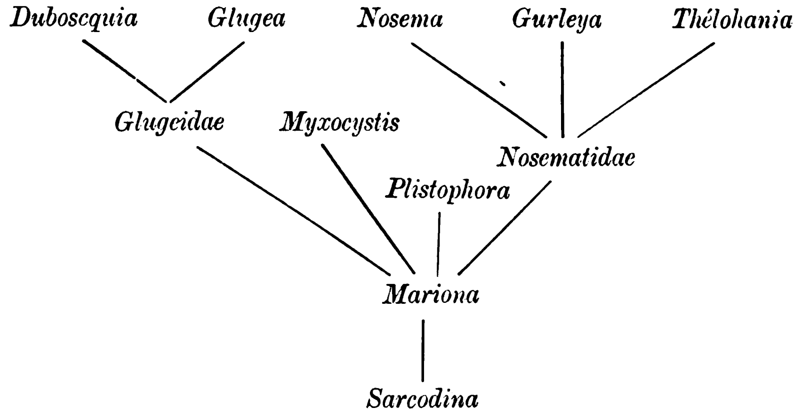
[3]) Die Vielteilungsmodi, welche wir bei den Gregarinen, Coccidien und Hämosporidien finden, dürften in der Tat phylogenetisch aus Knospungsprozessen hervorgegangen sein, wie der ja fast überall zu findende Restkörper deutlich anzeigt. Nur da, wo dieser ganz fehlt, dürfte ein Vielteilungsprozeß phylogenetisch auf fortgesetzte Zweiteilung zurückzuführen sein, wie z. B. die Vielteilung mancher Microsporidien-Meronten.

masse und in Sporen- oder Geschlechtskernmasse heraus,[1]) und da, wo es auf Weiterverbreitung der Parasiten innerhalb des Wirtes ankam, wurde der primitive Zustand durch Ausbildung der atavistischen sekundären Protoplasmakörper wiederhergestellt (s. meine Arbeiten 1904a und b). Während so bei den verschiedenen Gruppen die Form und Vermehrungsweise der vegetativen Stadien und der Sporenbildungsprozeß durch verschiedenartige Anpassung an die parasitäre Lebensweise modifiziert wurde, blieb die in den Sporen eingeschlossene Geschlechtsgeneration von allen diesen Prozessen naturgemäß unberührt, und wir finden daher in der sonst so vielgestaltigen Gruppe der Microsporidien eine große Uniformität der Sporen und wahrscheinlich auch der aus diesen hervorgehenden Amöboidkeime und Planonten. Wenngleich dieses Stadium bisher nur bei *Nosema bombycis* nachgewiesen worden ist, so dürfte es doch sicherlich auch bei den meisten anderen Microsporidien — ja vielleicht überhaupt den meisten Cnidosporidien — nicht fehlen, denn wie bei so vielen Parasiten anderer Tiergruppen, welche an einer vom Infektionsort weit entfernt gelegenen Körperstelle ihres Wirtes schmarotzen, wird es auch bei allen denjenigen Microsporidien, die nicht gerade ausschließlich im Darmepithel parasitieren, notwendigerweise eines kleinen, passiv durch den Blutstrom fortgetragenen Vermittlers zwischen Darm und Gewebe bedürfen. Nur in ihrer Kleinheit zeigen diese Planonten eine Anpassung an die parasitische Lebensweise; im übrigen aber haben sie von allen Stadien den Amöbencharakter ihrer Vorfahren am besten bewahrt.

Wenn wir die in obigem entwickelten phylogenetischen Anschauungen über die Verwandtschaftsverhältnisse der Microsporidien in Gestalt eines Stammbaums veranschaulichen wollen, — ohne natürlich damit eine direkte Deszendenz der angezogenen, jetzt lebenden Formen zu behaupten — so könnte das in folgender Weise geschehen:

---

[1]) Ähnliches findet sich auch schon bei manchen Plistophoriden, wie z. B. bei *Myxocystis Mrázeki* (Hesse 1905a, p. 13, Fig. 1) und *Plistophora periplanetae* (Perrin 1906b, p. 622, 623); es ist auch bei allen atavistischen anormalen Meronten und ähnlichen Formen dadurch angedeutet, daß fast immer Teile der Kernmasse nicht an der Sporenbildung beteiligt sind (s. Fig. 64 dieser Arbeit sowie die Fig. 34, 49—55, 110—114 meiner Arbeit über *Glugea anomala* (1904b)).



Zum Schluß noch einige Bemerkungen über die Beziehungen der Microsporidien zu den anderen Nesselkapselsporen besitzenden Sporozoen. Nach allem, was wir über die Morphologie der sogenannten phänocysten Myxosporidien wissen, stellen diese eine Parallelgruppe zu den Microsporidien dar, denn auch bei ihnen finden wir ganz ähnliche und gleichgerichtete Anpassungen an die parasitäre Lebensweise. Nur dadurch unterscheiden sie sich in dieser Hinsicht von den Microsporidien, daß jene Anpassung im allgemeinen nicht so weit geht wie bei den letzteren; im wesentlichen kommt es nämlich bei ihnen zur Ausbildung von Typen, die den Microsporidientypen *Mariona*, *Glugea* und vielleicht noch *Plistophora* entsprechen, dagegen ist eine so strenge zeitliche Scheidung der vegetativen und sporenbildenden Generation, wie sie bei den Nosematiden beobachtet wird, bei ihnen wohl nur sehr selten anzutreffen.[1]) Da nun die phänocysten Myxosporidien diejenigen Formen waren, welche wegen ihrer Größe eher genau bekannt wurden und sie der Untersuchung auch weniger technische Schwierigkeiten bieten als die Microsporidien, so hat man bis in die neueste Zeit hinein stets versucht, Entwicklungsstadien und morphologische Differenzierungen dieser Gruppe auch bei den Microsporidien wiederzufinden und Benennungen, welche für jene galten, gewaltsam auf diese anzuwenden. Dieses Verfahren hat dann zu einer Verwirrung in der

---

[1]) Immerhin kommt auch dieser Modus sicher vor, z. B. wahrscheinlich bei *Myxidium incurvatum* Thél. (cf. Thélohan 1895, p. 245, 246, 341, Fig. 53, 54) und auch bei der neuerdings von Léger und Hesse (1907) beschriebenen *Coccomyxa morovi*, bei welcher die freien „Sporoblasten“ nur je eine Spore bilden. Auch die Disporea Doflein's (1898) gehören hierher.

morphologischen Nomenklatur geführt, welche der Weiterforschung nicht heilsam sein kann. So wird der Ausdruck und Begriff „Pansporoblast", der ursprünglich allein auf die endogenen Knospen der phänocysten Myxosporidien gemünzt war, leider auch heute noch von vielen Microsporidienforschern auf die Sporenmutterzellen der Microsporidien angewendet. Ich habe schon bei verschiedenen Gelegenheiten auf das Verfehlte dieser Bezeichnung und Gleichsetzung ausführlich hingewiesen (1902, p. 266; 1904 b, p. 37) und kann mich daher hier mit der kurzen Bemerkung begnügen, daß man doch unmöglich selbständige Individuen, wie es die Sporenmutterzellen der Nosematiden sind, mit endogenen Knospen großer Protoplasmakörper, wie es die Pansporoblasten der phänocysten Myxosporidien sind, morphologisch gleichsetzen kann. Wenn man absolut dieselben Ausdrücke in beiden Gruppen gebrauchen will, so ließen sich allenfalls die endogenen Knospen der Plistophoriden und Glugeiden mit jenen Pansporoblasten der phänocysten Myxosporidien homologisieren;[1]) aber auch hier bestehen im Sporenbildungsmodus wesentliche Verschiedenheiten. Alles in allem dürfte es daher am zweckmäßigsten sein, jenen Ausdruck bei den Microsporidien ganz zu vermeiden und dafür die von mir vorgeschlagene Bezeichnung Sporont zu setzen. Die in der historischen Entwicklung der Forschung begründete Exemplifizierung auf die Myxosporidien trägt auch im wesentlichen die Schuld daran, daß die Entdeckung der vegetativen Vermehrungsformen der Nosematiden so lange hat auf sich warten lassen. Selbst ein so hervorragender Forscher wie Thélohan müht sich vergeblich ab, die von ihm beobachtete Tatsache, daß die Sporonten der *Thélohania*-Arten nicht im Innern eines Protoplasmakörpers liegen, mit den bei den eigentlichen Myxosporidien festgestellten Tatsachen in Einklang zu bringen, und er erklärt schließlich, daß die Annahme, sie seien isolierte, einzellige Individuen „une constitution absolument anormale et une évolution plus particulière encore" voraussetzen müßte! (1895, p. 244, 245.) Man sieht hier recht deutlich, wohin eine falsche Fragestellung führt. Ein weiterer Punkt, bei dem der zu enge Vergleich mit den bekannteren Myxosporidien, ebenfalls zu schiefen Anschauungen geführt hat, betrifft die von Schaudinn (1900, p. 281) vorgeschlagene Einteilung der Sporozoen in *Telosporidia* und

[1]) Auf keinen Fall aber das ganze sich zur Sporenbildung anschickende vegetative Stadium, das Perrin (1906 b, p. 625) als Pansporoblast bezeichnet. Daraus, wie aus der Tatsache, daß Perrin die *Plistophora periplanetae* in die Doflein'sche Gruppe der Oligosporogenea einreiht, sieht man recht deutlich, zu welchen Verirrungen und Irrtümern die ganze Nomenklatur führt.

Neosporidia. Nach dem damaligen Stande unserer Kenntnisse war diese Einteilung gewiß berechtigt, da man zu jener Zeit nur von wenigen phänocysten Myxosporidien etwas Näheres über die Entwicklung wußte und nun den Analogieschluß machte, daß die in dieser Hinsicht fast ganz unbekannten Gruppen der Microsporidien und Sarcosporidien sich ähnlich verhielten. Obgleich ich nun schon 1901 an der Hand der Entwicklung von *Thélohania mülleri* gezeigt hatte, daß hier genau ebenso gut eine „telospore“ Entwicklung vorliegt wie etwa bei den Coccidien und Hämosporidien, und obgleich die Ergebnisse dieser Untersuchung später von mehreren Forschern an anderen, ähnlichen Microsporidien bestätigt worden sind, hält doch die Mehrzahl der Forscher, welche sich mit der Systematik der Sporozoen beschäftigen, mit großer Zähigkeit weiter an jener durch die Autorität Schaudinn's gestützten Einteilung fest (s. z. B. Braun und Lühe 1909, p. 21). Gewiß kommt eine „Neosporie“ im Schaudinn'schen Sinne bei vielen Myxosporidien und Microsporidien vor; aber besonders bei der letzteren Gruppe keineswegs als Regel, sondern eher als Ausnahmefall bei einigen Glugeiden und Plistophoriden, während die Nosematiden genau dieselbe Telosporie zeigen wie andere Sporozoen (vgl. auch Pérez 1905c, p. 17).[1]) Neosporie und Telosporie können eben überhaupt kein Einteilungsprinzip für größere Gruppen abgeben und wenn sich auch im engen Rahmen einer Gruppe Homologien darauf aufbauen lassen, so wird man sie doch für weitergehende Homologisierungen niemals verwenden dürfen, da sie offenbar Konvergenzerscheinungen parasitärer Anpassung sind, wie sie uns ja gerade in der so wenig natürlichen Gruppe der Sporozoen häufig entgegentreten.

Aus dem Gesagten ergibt sich die Forderung, in Zukunft ängstlich jede Konfundierung der Microsporidien und Myxosporidien zu vermeiden.[2]) Wenn wir diese beiden Gruppen vergleichen wollen, mögen wir sie zusammen mit den neuerdings ja näher erforschten *Actinomyxidien* als gleichwertige Äste eines gemeinsamen Stammes betrachten. Man wird diese Anschauung auch zweckmäßig im System dadurch zum Ausdruck bringen, daß man diese drei Gruppen als

---

[1]) Vgl. auch die ähnlichen Bemerkungen Perrin's (1906b, p. 626, 627).

[2]) Die von Léger u. Hesse neuerdings (1907) beschriebene *Coccomyxa Morovi*, welche sie als Übergangsform zwischen Myxosporidien und Microsporidien auffassen, scheint mir nach dem Bau ihrer Spore eine echte Myxosporidie zu sein, deren Spore nur dadurch, daß sie eine Polkapsel besitzt, eine gewisse äußere Ähnlichkeit mit der Microsporidienspore erhält.

koordinierte Ordnungen einer Klasse der „Cnidosporidia" auffaßt.[1]) Diese drei Ordnungen sind am einfachsten kurz zu charakterisieren, wenn man den allgemeinen Bauplan der Sporen heranzieht. Die Sporen der Myxosporidien sind bekanntlich zweiklappig und weisen darin wie auch in manchem anderen eine zweistrahlig radiäre Symmetrie auf, dem Bau der Aktinomyxidienspore liegt klar eine dreistrahlig radiäre Symmetrie zugrunde, und die Microsporidienspore kann man sich, wenn man die die beiden Pole derselben verbindende Linie als Achse ansieht, als einen radiär symmetrischen Körper vorstellen, welcher beliebig viele Symmetrieebenen zuläßt, mit einem Worte, n-strahlig ist. So ergibt sich folgende kurze und übersichtliche Definition:

Cnidosporidia.

1. Myxosporidia. Sporen zweistrahlig radiär-symmetrisch.
2. Actinomyxidia. Sporen drei- „ „ „
3. Microsporidia. Sporen n- „ „ „

Die genauere Definition der Microsporidia wird lauten müssen: Sporen n-strahlig radiär symmetrisch, sehr klein, ei- oder flaschenförmig, mit einer Polkapsel und einem ringförmig darum angeordneten, im reifen Zustand vierkernigen Protoplasmakörper.

Chronologisches Verzeichnis der citierten Literatur.

NB. Die innerhalb eines Jahres erschienenen Abhandlungen sind alphabetisch nach den Namen der Verfasser geordnet. Wo in einem Jahre mehrere von demselben Autor herrührende Arbeiten vorhanden sind, habe ich sie, wie auch im Text, durch Buchstaben voneinander unterschieden. Die mit * bezeichneten Abhandlungen haben mir nicht im Original vorgelegen.

*1854 Leydig: Zur Anatomie von Coccus hesperidum. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 5 p. 11.

1856—1857 Lebert: Über die gegenwärtig herrschende Krankheit des Insektes der Seide. in: Jahresber. über d. Wirksamkeit d. Ver. z. Beförderung d. Seidenbaues d. Prov. Brandenburg im Jahre 1856—1857. Fast vollständig abgedruckt in: Berl. entom. Zeitschr. Jahrg. 2 (1858) (hiernach citiert).

[1]) Als selbständige Gruppe waren die Microsporidien auch bereits von Balbiani (1884) aufgestellt worden. Erst Thélohan (1895) ließ sich durch die Entdeckung, daß die Sporen der Microsporidien einen Polfaden besitzen, dazu verleiten, sie als „*Glugéidées*" den anderen Familien der Myxosporidien zu coordinieren, und darin stimmen mit ihm im wesentlichen Gurley (1893), Doflein (1899) und Pérez (1905c) überein, welche sie als „Cryptocystes" den phänocysten Myxosporidien gegenüberstellten. Erst Lühe (1900 u. 1909) hat sie wieder als selbständige Gruppe behandelt.

1857 Nägeli: Über die neue Krankheit der Seidenraupe und verwandte Organismen. in: Bot. Ztg. Jahrg. 15; 44. Stück.

1860 Cornalia: Sui caratteri che presenta il seme sano dei bachi da seta e come questo si possa distinguere dal seme infetto. in: Atti Soc. ital. sc. nat. Vol. 2 Anno 1859—1860 p. 255—270 Taf. 8.

1862 Keferstein: Über parasitische Pilze aus Ascaris mystax. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Vol. 11.

1863 Leydig: Der Parasit der neuen Krankheit der Seidenraupe. in: Arch. f. Anat. u. Physiol.

1866 Balbiani: Recherches sur les corpuscules de la pébrine. in: Journ. Anat. Physiol. Année 3 (hiernach citiert); auch in C. R. Acad. Sc. Paris Vol. 63 (1866).

1866 Béchamp: Recherches sur la nature de la maladie actuelle des vers à soie. in: C. R. Acad. Sc. Paris Vol. 63.

1867a Balbiani: Etudes sur la maladie psorospermique des vers à soie. in: Journ. Anat. Physiol. Année 4.

1867b —: Sur la prétendue reproduction par scissiparité des corpuscules ou psorospermies des vers à soie. in: C. R. Acad. Sc. Paris Vol. 64.

1867 Béchamp: Faits pour servir à l'histoire de la maladie parasitaire des vers à soie appelée pébrine. in: C. R. Acad. Sc. Paris Vol. 64.

1867 Pasteur: Sur la nature des corpuscules des vers à soie (Lettre à M. Dumas). in: C. R. Acad. Sc. Paris Vol. 64 p. 835, 836. (Siehe auch die zahlreichen weiteren Artikel Pasteur's und anderer in diesem Band und den voraufgehenden.)

*1868 Quatrefages, M. de: Rapports du Jury international de l'Exposition universelle de 1867; T. 12.

*1870 Pasteur: Etude sur la maladie des vers à soie. Paris.

1871 Haberlandt: Der Seidenspinner des Maulbeerbaumes. Wien.

1880—1882 Bütschli: Protozoa. I. Abt.: Sarcodina und Sporozoa. in: Bronn's Kl. u. Ordn. d. Tierreichs. Leipzig und Heidelberg.

1883 Balbiani: Les Sporozoaires (suite); les Microsporidies. in: Journ. Micrograph. Vol. 7 Paris.

1884 —: Leçons sur les Sporozoaires. Paris.

1888 Henneguy, F.: Contribution à l'étude des Sarcosporidies; note sur un parasite des muscles du Palaemon rectirostris. in: Mém. publ. Soc. philom. Paris à l'occas. Centen. Fondat. p. 163—171.

1888 Pfeiffer, L.: Beiträge zur Kenntnis der pathogenen Gregarinen. I. Die Microsporidien und die Fleckenkrankheit (Pébrine) des Seidenspinners in: Zeitschr. f. Hyg. Vol. 3.

1891 —: Die Protozoen als Krankheitserreger. 2. Aufl. Jena.

*1891 Thélohan: Sur deux sporozoaires nouveaux parasites des muscles des poissons. in: C. R. Soc. Biol. Vol. 43 p. 27, 29 und in: C. R. Acad. Sc. Paris Tome 112 p. 168—171.

*1892a Henneguy et Thélohan: Myxosporidies parasites des muscles chez quelques Constacés décapodes. in: Ann. Micrograph. Paris Vol. 4 p. 617—639.

1992b — —: Sur une Sporozoaire parasite des muscles des Constacés décapodes. in: C. R. Soc. Biol. Paris (9) Vol. 4; ferner in: C. R. Acad. Sc. Paris Vol. 114 und in: Ann. Mag. nat. Hist. (6) Vol. 10 (hiernach citiert).

1892 Korotneff: Myxosporidium bryozoides. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Vol. 53.

*1893 Gurley, R.: On the classification of the Myxosporidia. in: Bull. U. S. Fish. Comm. for 1891 Vol. 11 p. 407—420.

1894 Schewiakoff: Über einige ecto- und endoparasitische Protozoen der Cyclopiden. in: Bull. Soc. Nat. Moscou Année 1893 Vol. 7.

1895 Pfeiffer, L.: Die Protozoen als Krankheitserreger. Nachträge. Jena.

1895 Thélohan: Recherches sur les Myxosporidies. in: Bull. scient. France Belg. Tome 26.

1896 Krassilstschik: Sur une nouvelle propriété du corpuscule (Microsporidium) de la pébrine. in: C. R. Acad. Sc. Paris Vol. 123 p. 358—359.

1897 Léger: Sur une nouvelle Myxosporidie de la famille des Glugéidées. in: C. R. Acad. Sc. Paris Vol. 125 (hiernach citiert), und in: Ann. Mag. nat. hist. (6) Vol. 20.

*1897 Mrázek: Über eine neue Sporozoenform aus Limnodrilus (Myxocystis ciliata n. g. n. sp.). in: Sitz.-Ber. Böhm. Ges. Wiss. Math. Nat. Kl. Bd. 8.

1898 Bolle, J.: Der Seidenbau in Japan. Wien.

1898 Doflein: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. III. Über Myxosporidien. in: Zool. Jahrb. (Anat.) Vol. 11.

1898 Kulagin: Zur Entwicklungsgeschichte von Glugea bombycis Thélohan. in: Zool. Anz. Vol. 21 p. 469—471.

1899 Bolle, J.: Der Seidenspinner des Maulbeerbaumes. Seine Aufzucht, seine Krankheiten und die Mittel zu ihrer Bekämpfung. Wien (Selbstverlag d. V. z. Verbreitg. naturwiss. Kenntn.).

1899 Doflein, F.: Fortschritte auf dem Gebiete der Myxosporidienkunde. in: Zool. Centralbl. 4. Jahrg. Nr. 11, 12.

1899 Hagenmüller: Sur une nouvelle Myxosporidie, Nosema Stephani, parasite du Flesus passer Moréau. in: C. R. Acad. Sc. Paris Vol. 129.

1899 Labbé: Sporozoa. in: Tierreich; Liefg. 5. Berlin.

1900 Lühe: Ergebnisse der neueren Sporozoenforschung. Erweiterter Abdruck aus d. Centralbl. Bakt. Parasitenk. Infektionskrankh. I. Abt. Bd. 27/28.

1900 Mrázek: Sporozoenstudien. II. Glugea lophii Doflein. in: Sitz.-Ber. böhm. Ges. Wiss. math.-naturw. Kl. Jahrg. 1899.

1900 Schaudinn: Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. in: Zool. Jahrb. (Anat.) Vol. 13.

1901 Stempell: Zur Entwicklung von Plistophora mülleri (L. Pfr.). in: Zool. Anz. Bd. 24.

1901 Vaney et Conte: Sur une nouvelle Microsporidie, Plistophora mirandellae, parasite de l'ovaire d'Alburnus mirandella Blanch. in: C. R. Acad. Sc. Paris Vol. 133.

1902 a Giemsa: Färbemethoden für Malariaparasiten. (Vorl. Mitteil.) in: Centralbl. Bakt. Parasitenk. Abt. 1 Vol. 31.

1902 b —: Färbemethoden für Malariaparasiten. in: Centralbl. Bakt. Parasitenk. Abt. 1 Vol. 32.

1902 a Schaudinn: Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. I. Bacillus Bütschlii n. sp. in: Arch. Protistenk. Bd. 1.

1902 b —: Studien über krankheitserregende Protozoen. I. Cyclospora caryolytica Schaud. in: Arb. kais. Gesundheitsamt Bd. 18 Heft 3.

1902 Stempell: Über Thélohania mülleri (L. Pfr.). in: Zool. Jahrb. (Anat.) Vol. 16.

1903a Hesse: Sur une nouvelle Microsporidie tétrasporée du genre Gurleya. in: C. R. Soc. Biol. Paris Tome 55 und in: Annales Université Grenoble Tome 16 No. 1.

1903b —: Sur la présence de Microsporidies du genre Thélohania chez les insectes. C. R. Acad. Sc. Paris Tome 137 p. 418—419 und in: Annales Université Grenoble Tome 16 No. 1.

1903 Kaiserling: Lehrbuch der Mikrophotographie. Berlin.

1903 Lutz, A. u. A Splendore: Über Pébrine und verwandte Microsporidien. Ein Beitrag zur Kenntnis der brasilianischen Sporozoen. in: Centralbl. Bakt. Parasitenk. 1. Abt. Bd. 33.

*1903 Minchin: The Protozoa. Section K (The Sporozoa). in: Treat. on Zool. by E. Ray Lankester. London.

1903 Simond: Note sur un sporozoaire du genre Nosema, parasite du Stegomya fasciata. in: C. R. Soc. Biol. Tome 55.

1903 Stempell: Über die Fortpflanzung der Protozoen. (Zusammenfassende Übersicht.) in: Mitteil. naturwiss. Ver. Neuvorpommern und Rügen 34. Jahrg. (1902).

1904a Hesse: Thélohania Légeri n. sp., Microsporidie nouvelle, parasite des larves d'Anopheles maculipennis Meig. in: C. R. Soc. Biol. Paris Tome 57.

1904b Hesse: Sur le développement de Thélohania Légeri Hesse. in: C. R. Soc. Biol. Paris Tome 57.

1904 Köhler: Mikrophotographische Untersuchungen mit ultraviolettem Licht. in: Zeitschr. wiss. Mikrosk. Bd. 21 p. 129—165, 273—304.

1904 Pérez: Sur une Microsporidie parasite du Carcinus maenas. in: C. R. Soc. Biol. Tome 57.

1904a Stempell: Über die Entwicklung von Nosema anomalum Monz. in: Zool. Anz. Bd. 27.

1904b —: Über Nosema anomalum Monz. in: Arch. Protistenk. Bd. 4.

1904 Woodcock: On Myxosporidia in Flat-Fish. in: Trans. Biol. Soc. Liverpool Vol. 18 und in: 12. Rep. Lancashire Sea Fish Investig. for 1903.

1905 Caullery et Mesnil: Recherches sur les Actinomyxidies. I. Sphaeractinomyxon Stolci Caullery et Mesnil. in: Arch. Protistenk. Bd. 6.

1905a Hesse: Sur Myxocystis Mrázeki Hesse, Microsporidie parasite de Limnodrilus Hoffmeisteri Clap. in: C. R. Soc. Biol. Paris Tome 58 p. 12—14.

1905b —: Microsporidies nouvelles des insectes. in: Ann. Université Grenoble Tome 17 No. 2.

1905a Pérez: Sur une nouvelle Glugéidée parasite du Carcinus maenas. in: C. R. Soc. Biol. Tome 58.

1905b —: Sur une Glugea nouvelle parasite de Balanus amaryllis. in: C. R. Soc. Biol. Tome 58.

1905c —: Microsporidies parasites des Crabes d'Arcachon. in: Bull. Stat. biol. d'Arcachon 1904—1905; 8e année.

1905 Stempell: Vegetatives Leben und Geschlechtsakt. in: Mitt. naturw. Ver. Neuvorpommern und Rügen 36. Jahrg. (1904).

1905 Zsigmondy; Zur Erkenntnis der Kolloide.

1906 Cépède: Sur une Microsporidie nouvelle, Pleistophora macrospora, parasite des Loches franches du Dauphiné. in: C. R. Acad. Sc. Paris Tome 142 und in: C. R. Soc. Biol. Année 1906 Tome 60.

*1906 Léger: Sur une nouvelle maladie myxosporidienne de la Truite indigène. in: C. R. de l'Acad. Sc. Paris Tome 142 p. 655.

1906 Léger et Hesse: Sur la structure de la paroi sporale des Myxosporidies. Ibid. p. 720.

1906 Mercier: Phénomène de sexualité chez Myxobolus Pfeifferi. in: C. R. Soc. Biol. Tome 60 p. 427.

*1906 a Perrin: Preliminary communication on the life-history of Pleistophora periplanetae Lutz and Splendore. in: Proc. Cambridge Phil. Soc. Vol. 13 p. 204—208.

1906 b —: Observations on the structure and life-history of Pleistophora periplanetae Lutz and Splendore. in: Quart. Journ. Micr. Sc. Vol. 49 p. 615—633 pl. 37—38.

1906 Schröder: Eine neue Myxosporidienart aus den Kiemen von Acerina cernua. in: Arch. Protistenk. Bd. 7.

1907 Lee, A. B. u. P. Mayer: Grundzüge der mikroskopischen Technik. 3. Aufl. Berlin.

1907 Léger et Hesse: Sur une nouvelle Myxosporidie, parasite de la Sardine. in: C. R. Acad. Sc. Tome 145 p. 85—87.

1907 Schröder: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Myxosporidien. Sphaeromyxa labrazesi (Laveran et Mesnil). in: Arch. Protistenk. Bd. 9.

1907 a Stempell: Die Pébrinekrankheit der Seidenraupe. in: Sitz.-Ber. Mediz.-naturw. Ges. Münster i. W.

1907 b —: Das neue Lumière'sche Verfahren der Farbenphotographie und seine Verwendbarkeit für wissenschaftliche, speziell mikrophotographische Zwecke. in: Sitz.-Ber. Mediz.-naturw. Ges. Münster i. W.

1908 Bolle, J.: Anleitung zur Kultur des Maulbeerbaumes und zur rationellen Aufzucht der Seidenraupe. Herausg. vom K. K. Ackerbauministerium Görz.

1908 Mercier: Sur le développement et la structure des spores de Thélohania Giardi Henneguy. in: C. R. Acad. Sc. Paris Tome 146.

1908 Pérez: Sur Duboscquia Légeri, Microsporidie nouvelle parasite du Termes lucifugus et sur la classification des Microsporidies. in: C. R. Soc. Biol. (Séance de la Réunion biologique de Bordeaux du 1er décembre 1908) p. 631, 632.

1908 Keysselitz, G.: Die Entwicklung von Myxobolus Pfeifferi Th. in: Arch. Protistenk. Bd. 11.

1909 Awerinzew: Studien über parasitische Protozoen. I. Die Sporenbildung bei Ceratomyxa drepanopsettae mihi. in: Arch. Protistenk. Bd. 14 H. 1.

1909 Braun u. Lühe: Leitfaden zur Untersuchung der tierischen Parasiten des Menschen und der Haustiere. Würzburg.

1909 Krassilstschik: Über neue Sporozoen bei Insekten, die von Bedeutung für die Systematik der Sporozoen sind. in: Arch. Protistenk. Bd. 14.

1909 Schröder: Thélohania chaetogastris, eine neue in Chaetogaster diaphanus Gruith schmarotzende Microsporidienart. in: Arch. Protistenk. Bd. 14 H. 2.

1909 a Stempell: Über die Auflösung feinster organischer Strukturen durch Mikrophotographie mit ultraviolettem Licht. in: Zeitschr. f. physikal. Chemie Bd. 67.

1909 b —: Über die Entwicklung von Nosema bombycis Nägeli. in: Zool. Anz. Bd. 34.

Erklärung der Abbildungen.

(Tafel XIX—XXV.)

NB. Alle Figuren beziehen sich auf *Nosema bombycis* mit Ausnahme der Fig. 6, welche *Glugea anomala* betrifft.

Durchgehende Abkürzungen.

Eingeklammerte, große Buchstaben bedeuten die im Text beschriebenen Infektionsversuche A, B, C und D; die dabei stehenden Zahlen die Tage, welche seit der ersten Infektion verflossen sind.

D.-A. Deckglasausstrichpräparat.
F. Formolkonservierung.
Fl. Konservierung mit Flemming'scher Flüssigkeit.
G. Giemsa'sche Färbung.
H. Färbung mit Delafield'schem Hämatoxylin.
S.-A. Konservierung mit heißem Sublimat-Alkohol.
Schn. Schnitt.
Vergr. Vergrößerung.

Tafel XIX.

(Photographien mit gewöhnlichem und ultraviolettem Licht.)
Reproduktion durch Lichtdruck.

Fig. 1. Mittlere Segmente einer stark pébrinekranken Raupe von *Bombyx mori* mit den charakteristischen schwarzen Flecken. Aufnahme nach dem Leben bei auffallendem Licht. Zeiss' Mikroplanare 75 mm (Serie Ia Nr. 4). Vergr. 6:1.

Fig. 2. *Nosema bombycis.* Stück eines Querschnittes durch die vollkommen von Sporen erfüllten Muskelfasern einer stark infizierten, älteren Seidenraupe. S.-A., H, Zeiss' Apochromat-Ölimmersion 2 mm, Comp.-Oc. 6. Vergr. 780:1.

Fig. 3. *N. bombycis.* Stück eines Querschnittes durch eine stark infizierte Seidenraupe. Fl. H. Zeiss' Apochromat Obj. 16 mm, Comp.-Oc. 4. Vergr. 80:1.

Fig. 4. *N. bombycis.* Schnitt durch einige Mitteldarmepithelzellen einer künstlich infizierten, jungen Seidenraupe (A 7): Merontenketten in den Epithelzellen. S.-A. H. Zeiss' Apochromat-Ölimmersion 2 mm, Comp.-Oc. 6. Vergr. 780:1.

Fig. 5. *N. bombycis.* Schnitt durch Muskelfasern einer künstlich infizierten jungen Seidenraupe (A 7): Querschnitte zweier Muskelfasern mit beginnender Infektion durch Meronten und Längsschnitt einer bereits von Meronten ganz erfüllen Faser. S.-A., H. Zeiss' Apochromat-Ölimmersion 2 mm, Comp.-Oc. 6. Vergr. 780:1.

Fig. 6. *Glugea anomala.* Reife Sporen aus dem Tumor eines Stichlings. F., ausgebreitet in dünner Schicht in Glycerin und ungefärbt bei ultraviolettem Licht (Cadmiumlinie $\lambda = 0{,}275\ \mu$) photographiert. (Zeiss' Monochromat-Glycerinimmersion, 1,7 mm, Quarz-Oc. 10, Blende des 4fachen Quarzkondensors 6 mm, optische Kameralänge 31 cm, Expositionszeit 15 Sek., Vergr. 1800:1.

Fig. 7. *N. bombycis.* Reife, etwas schiefliegende Spore aus *Bombyx mori*, mit S.-A. konserviert und in Glycerin ungefärbt bei ultraviolettem Licht (Cadmiumlinie $\lambda = 0{,}275\ \mu$) photographiert. Zeiss' Monochromat-Glycerinimmersion, Quarz-Oc. 20, Blende des 4fachen Quarzkondensors 3 mm, optische Kameralänge 31 cm, Expositionszeit 60 Sek., Hintergrund abgedeckt: Polfadenspirale sichtbar. Vergr. 3600:1.

Fig. 8—11. *N. bombycis*, reife Sporen aus *Bombyx mori*, mit S.-A. konserviert und in verdünnter Salpetersäure ungefärbt bei ultraviolettem Licht (Cadmiumlinie $\lambda = 0{,}275\ \mu$) photographiert. Zeiss' Monochromat-Glycerinimmersion 1,7 mm, Quarz-Oc. 20, äußerst schiefe Beleuchtung (exzentrische Blende des Quarzkondensors 4 mm) mit Strahlenrichtung parallel zur Längsachse der Sporen, optische Kameralänge 31 cm, Expositionszeit 120 Sek. Vergr. 3600 : 1. Fig. 8, 9 und 10 sind Aufnahmen derselben Objekte bei 3 um je etwa 0,5 μ verschiedenen Einstellungen; Fig. 11 ist dieselbe Aufnahme wie die in Fig. 8 dargestellte, nur mit abgedecktem Hintergrund. Die Polfadenspirale ist in den drei gleich gerichteten Sporen sichtbar.

Tafel XX.

(Farben-Microphotogramme nach dem Lumière'schen Verfahren.)
Reproduktion durch Dreifarbendruck.

Fig. 12. *N. bombycis*. Meronten und Sporen im Ausstrich einer pébrinekranken Seidenraupe (das Präparat enthält außerdem noch Bakterien) S.-A., G. Aufnahme auf Lumière'scher Autochromplatte. Bogenlicht, Spezziallichtfilter Lumière's dafür. Zeiss' Apochromat-Ölimmersion 2 mm, Comp.-Oc. 6, Expositionszeit 8 Min. Vergr. 1300 : 1.

Fig. 13. Ebenso wie Fig. 12; nur Vergr. 1600 : 1 und Expositionszeit 25 Min.

Fig. 14. Ebenso wie Fig. 13.

Tafel XXI.

Zeichnungen von Schnitten. Mit Hilfe des Abbé'schen Zeichenapparates in den Farben der Originalpräparate wiedergegeben.

Fig. 15. Stück eines Schnittes durch den Mitteldarm einer mit *N. bombycis* infizierten jungen Raupe von *Arctia caja* (B 8): Planonten in Darmlumen, im Blut und in Epithelzellen. S.-A., G. Zeiss' Apochromat-Ölimmersion 2 mm, Comp.-Oc. 18. Vergr. 2200 : 1.

Fig. 16. Stück eines Schnittes durch den Mitteldarm einer mit *N. bombycis* infizierten jungen Raupe von *Arctia caja* (B 3): Meronten und junge Sporen in der einen Epithelzelle. S.-A., G. Zeiss' Apochromat-Ölimmersion 2 mm, Comp.-Oc. 18, Vergr. 2200 : 1.

Fig. 17. Stück eines Querschnittes durch eine Muskelfaser einer mit *N. bombycis* infizierten Raupe vcn *Bombyx mori* (A 7): Beginnende Infektion der Muskelfaser durch hineinwachsende Meronten. S.-A., H. Zeiss' Apochromat-Ölimmersion 2 mm, Comp.-Oc. 18. Vergr. 2200 : 1.

Fig. 18. Stück eines Querschnittes durch eine stark mit Sporen von *N. bombycis* infizierte Muskelfaser einer älteren Raupe von *Bombyx mori* (etwas schematisiert). Zeiss' Apochromat-Ölimmersion 2 mm, Comp.-Oc. 18. Vergr. 2200 : 1.

Fig. 19. Schnitt durch ein unbefruchtetes, mit *N. bombycis* infiziertes Ei von *Bombyx mori*: centrale Lagerung der Parasitenmasse (p). S.-A., H. Zeiss Achromat-Objektiv A. Hughens'sches Oc. 2. Vergr. 54 : 1.

Tafel XXII.

Zeichnungen von Schnitten. Mlt Hilfe des Abbe'schen Zeichenapparates in den Farben der Originalpräparate wiedergegeben.

Fig. 20. Stück eines Schnittes durch den Mitteldarm einer mit *N. bombycis* infizierten jungen Raupe von *Arctia caja* (B 8): Merontenketten und junge Sporen

im Epithel (etwas schematisiert). S.-A., G. Zeiss' Apochromat-Ölimmersion 2 mm, Comp.-Oc. 18. Vergr. 2200 : 1.

Fig. 21. Stück eines Schnittes durch die Haut einer stark mit *N. bombycis* infizierten, erwachsenen Raupe von *Bombyx mori*: Fleckenbildung in der Chitincuticula. S.-A., H. Zeiss' Achromat-Objektiv D, Hughens'sches Oc. 5. Vergr. 500 : 1.

Tafel XXIII u. XXIV.

Zeichnungen von Einzelstadien. Alle Figuren beziehen sich auf *Nosema bombycis* und sind mit Hilfe des Abbé'schen Zeichenapparates unter Benutzung von Zeiss' Apochromat-Ölimmersion 2 mm (num. Apertur 1,30) und des Comp.-Oc. 18 in einer 2200 fachen Vergrößerung dargestellt. Zeichnungen von Dauerpräparaten sind in den Farben der Originalpräparate wiedergegeben.

Fig. 22. Junger Meront aus einer jungen Raupe von *Arctia caja* (B 5). S.-A., D.-A., G.

Fig. 23. Junger Meront aus einer Darmepithelzelle einer jungen Raupe von *Bombyx mori* (C 11). S.-A., Schn., H.

Fig. 24—26. Meronten in Zweiteilung aus Raupen von *Bombyx mori*. S.-A., D.-A., G.

Fig. 27. Meront in Zweiteilung aus einer jungen Raupe von *Bombyx mori*. Nach dem Leben. (A 7.) D.-A.

Fig. 28, 29. Meronten in Zweiteilung aus Raupen von *Bombyx mori*. Nach dem Leben. D.-A.

Fig. 30—33. Meronten in Zweiteilung aus einer jungen Raupe von *Arctia caja* (B 5). S.-A., D.-A., H.

Fig. 34. Meront in Zweiteilung aus einer Raupe von *Bombyx mori* (A 7). S.-A , D.-A., G.

Fig. 35—45. Meronten in Zweiteilung, Vielteilung usw., teilweise unter Kettenbildung, aus Raupen von *Bombyx mori*. S.-A., D.-A., G.

Fig. 46, 47. Meronten, davon einer in Zweiteilung, aus Raupen von *Bombyx mori*. Nach dem Leben. D.-A.

Fig. 48, 49. Meronten in Zweiteilung, aus einer jungen Raupe von *Arctia caja* (B 3). Nach dem Leben. D.-A.

Fig. 50—62. Meronten verschiedener Wachstums- und Teilungsformen aus Raupen von *Bombyx mori*. S.-A., D.-A., G.

Fig. 63. Wahrscheinlich junge Spore mit vollendeter Teilung des Kerns in den Amöboidkeimkern, die beiden Schalenkerne und den Polkapselkern. Aus einer Epithelzelle des Mitteldarms einer Raupe von *Arctia caja* (B 5). S.-A., Schn., G.

Fig. 64. Anormaler Meront mit reifen Sporen aus einer Raupe von *Bombyx mori*. S.-A., D.-A., G.

Fig. 65. Meront, in Umwandlung zur Spore begriffen, aus einer Raupe von *Arctia caja* (B 5). S.-A., D.-A., G.

Fig. 66. Junge Spore aus einer Mitteldarmepithelzelle von *Arctia caja* (B 5). S.-A., Schn., G.

Fig. 67. Junge Spore aus einer Raupe von *Bombyx mori*. (Bildung der Schalen- und Polkapselkerne.) S.-A., D.-A., G.

Fig. 68. Junge Spore aus dem Darminhalt einer Raupe von *Arctia caja* (B 2). S.-A., Schn., G. (Stammt wohl sicher direkt aus dem Infektionsmaterial.)

Fig. 69. Junge Spore aus einer Raupe von *Arctia caja* (B 3). Nach dem Leben. D.-A.

Fig. 70, 71. Junge Sporen aus dem subepithelialen Gewebe des Mitteldarms einer Raupe von *Arctia caja* (B 5). S.-A., Schn., G.

Fig. 72. Junge Spore aus einer Raupe von *Bombyx mori*. S.-A., D.-A., G.

Fig. 73. Junge Spore aus einer Mitteldarmepithelzelle der Raupe von *Arctia caja* (B 5). S.-A., Schn., G.

Fig. 74, 75. Junge Sporen mit Kernteilung aus dem Darminhalt einer Raupe von *Arctia caja* (B 2). S.-A., Schn., G. (Stammen wohl sicher direkt aus dem Infektionsmaterial.)

Fig. 76. Junge Spore mit Kernteilung aus einer Raupe von *Bombyx mori*. S.-A., D.-A., G.

Fig. 77. Junge Spore mit Kernteilung aus dem Darminhalt einer Raupe von *Arctia caja* (B 2). S.-A., Schn., G. (Stammt wohl sicher direkt aus dem Infektionsmaterial.)

Fig. 78, 79. Junge Sporen mit Kernteilung aus einer Mitteldarmepithelzelle einer Raupe von *Arctia caja* (B 5). S.-A., Schn., G.

Fig. 80. Spore mit zwei Amöboidkeimkernen, einem Polkapselkern und undeutlichen Resten der beiden Schalenkerne (links).

Fig. 81, 82. Zweikernige, junge Sporen aus einer Raupe von *Bombyx mori*. S.-A., D.-A., G.

Fig. 83. Junge Spore mit zwei Amöboidkeimkernen, zwei Schalenkernen und einem Polkapselkern aus einer Raupe von *Bombyx mori*. S.-A., D.-A., G.

Fig. 84. Zweikernige jüngere Spore aus einer Raupe von *Bombyx mori*. S.-A., D.-A., G.

Fig. 85. Zweikernige, jüngere Spore aus einer Mitteldarmepithelzelle einer Raupe von *Arctia caja* (B. 5). S.-A., Schn., G.

Fig. 86. Junge Spore aus einer Raupe von *Arctia caja* (B 3). Nach dem Leben. D.-A.

Fig. 87. Junge, birnförmige Spore aus einer Raupe von *Bombyx mori*. Nach dem Leben. D.-A.

Fig. 88, 89. Junge, birnförmige Sporen, eine davon mit beginnender Ausstülpung des Polfadens, aus einer Raupe von *Arctia caja* (B 4). Nach dem Leben. D.-A.

Fig. 90—93. Reife Sporen aus einer Raupe von *Bombyx mori*. S.-A., D.-A., G.

Fig. 94, 95. Reife Sporen aus der Muskulatur einer Raupe von *Saturnia Pernyi* (Material von L. Pfeiffer). Schn., Karbolfuchsin.

Fig. 96, 97. Reife Sporen aus Raupen von *Bombyx mori*. Nach dem Leben. D.-A.

Fig. 98. Reife Spore aus einer Raupe von *Bombyx mori*, bei mittlerer Einstellung. Nach dem Leben. D.-A.

Fig. 99. Reife Spore aus dem Darminhalt einer jungen *Arctia caja*-Raupe (B 2). Nach dem Leben. D.-A.

Fig. 100. Reife Spore aus einer Raupe von *Bombyx mori*, nach Behandlung mit Jodtinktur und bei Untersuchung mit schiefem Licht. D.-A.

Fig. 101. Reife Spore aus einer Raupe von *Bombyx mori*, nach Behandlung mit Salpetersäure und bei Untersuchung mit schiefem Licht. D.-A.

Fig. 102. Anormal große Spore aus dem Darminhalt einer jungen Raupe von *Arctia caja* (B 2). Nach dem Leben. D.-A. (Stammt wohl sicher direkt aus dem Infektionsmaterial.)

Fig. 103—105. Sporen aus dem Darmkanal einer jungen Raupe von *Arctia caja* (B 2), bei welchen die Teilung der beiden Kerne sich teils vorbereitet, teils vollendet ist. S.-A., D.-A., G.

Fig. 106. Spore aus dem Darminhalt einer jungen Raupe von *Bombyx mori* (C 11). S.-A., Schn., H.

Fig. 107. Reife (vierkernige?) Spore aus einer Raupe von *Bombyx mori*. S.-A., D.-A., G.

Fig. 108, 109. Vierkernige Sporen aus dem Darminhalt einer jungen Raupe von *Arctia caja* (B 2). S.-A., Schn., G.

Fig. 110. Spore aus einer Raupe von *Bombyx mori*, nach Behandlung mit Jodtinktur, mit beginnender Ausstülpung des Polfadens. D.-A.

Fig. 111. Unreife Spore aus einer jungen Raupe von *Bombyx mori* (A 6) mit ausgestülptem Polfaden. Nach dem Leben. D.-A.

Fig. 112, 113. Sporen mit ausgestülptem Polfaden aus dem Darminhalt einer jungen Raupe von *Arctia caja* (B 2). Nach dem Leben. D.-A.

Fig. 114. 115. Sporenhülle mit auskriechendem Amöboidkeim und anhängendem Polfaden aus dem Darm einer jungen Raupe von *Bombyx mori* (B, 6 Stunden nach der ersten Infektion). Nach dem Leben. D.-A. (Fig. 115 ist 10 Minuten später als Fig. 114 gezeichnet.)

Fig. 116. Sporenhülle mit anliegendem Amöboidkeim (?) und abgestoßenem Polfaden, aus dem Darminhalt einer jungen Raupe von *Arctia caja* (B 2). Nach dem Leben. D.-A.

Fig. 117. Leere Sporenhülle aus dem Darminhalt einer jungen Raupe von *Arctia caja* (B 3). Nach dem Leben. D.-A.

Fig. 118. Dasselbe wie in Fig. 117; nur 2 Tage nach der Infektion (B 2).

Fig. 119. Leere Sporenhülle aus dem Darminhalt einer jungen Raupe von *Arctia caja* (B 2). S.-A., Schn., G.

Fig. 120. Sporenhülle mit zwei Kernen, aus dem Darminhalt einer jungen Raupe von *Arctia caja* (B 3). S.-A., Schn., G.

Fig. 121. Junger, zweikerniger Amöboidkeim aus dem Darminhalt einer jungen Raupe von *Arctia caja* (B 3). S.-A., Schn., G. (Lag in der Nähe der in Fig. 120 abgebildeten Hülle.)

Fig. 122. Zweikerniger (?) Amöboidkeim aus dem Darminhalt einer jungen Raupe von *Bombyx mori* (C 11). S.-A., Schn., H.

Fig. 123. Zweikerniger Amöboidkeim vom äußersten Rand einer Mitteldarmepithelzelle einer jungen Raupe von *Bombyx mori* (C 11). S.-A., Schn., H.

Fig. 124. Zweikerniger Amöboidkeim aus dem Darminhalt einer jungen Raupe von *Bombyx mori* (C 11). S.-A., Schn., H.

Fig. 125. Planonten, darunter einige in Zweiteilung, aus dem Darminhalt einer jungen Raupe von *Arctia caja* (B 2). S.-A., Schn., G.

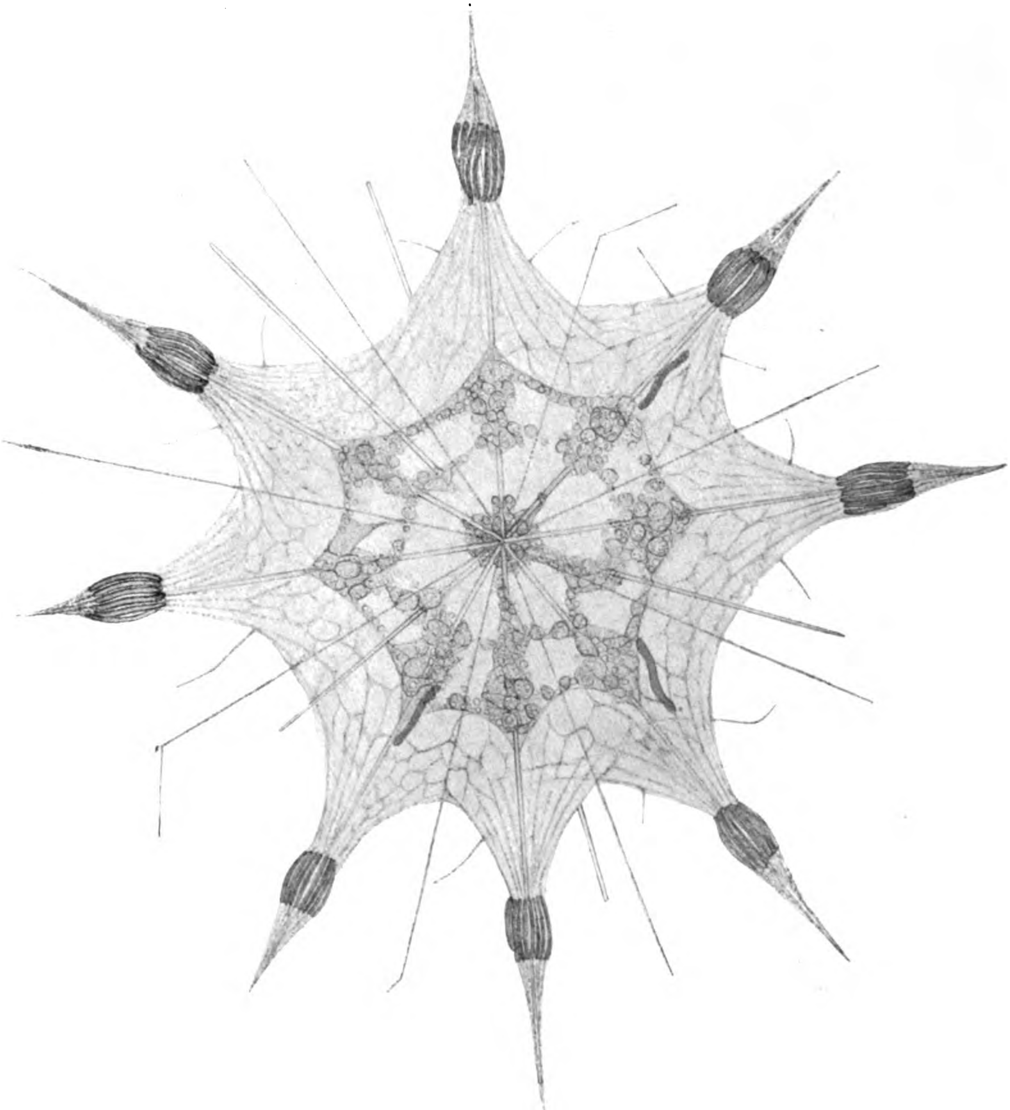
Fig. 126. Planonten, teils in Vermehrung begriffen, aus dem Inhalt des Vorderdarms einer jungen Raupe von *Arctia caja* (B 5). S,-A., Schn., H.

Fig. 127. Planonten, teils in Vermehrung begriffen, aus einer jungen Raupe von *Arctia caja* (B 2). Nach dem Leben. D.-A.

Tafel XXV.

Fig. 128. Schema des Zeugungskreises von *Nosema bombycis*. Vergr. circa 4000 : 1.

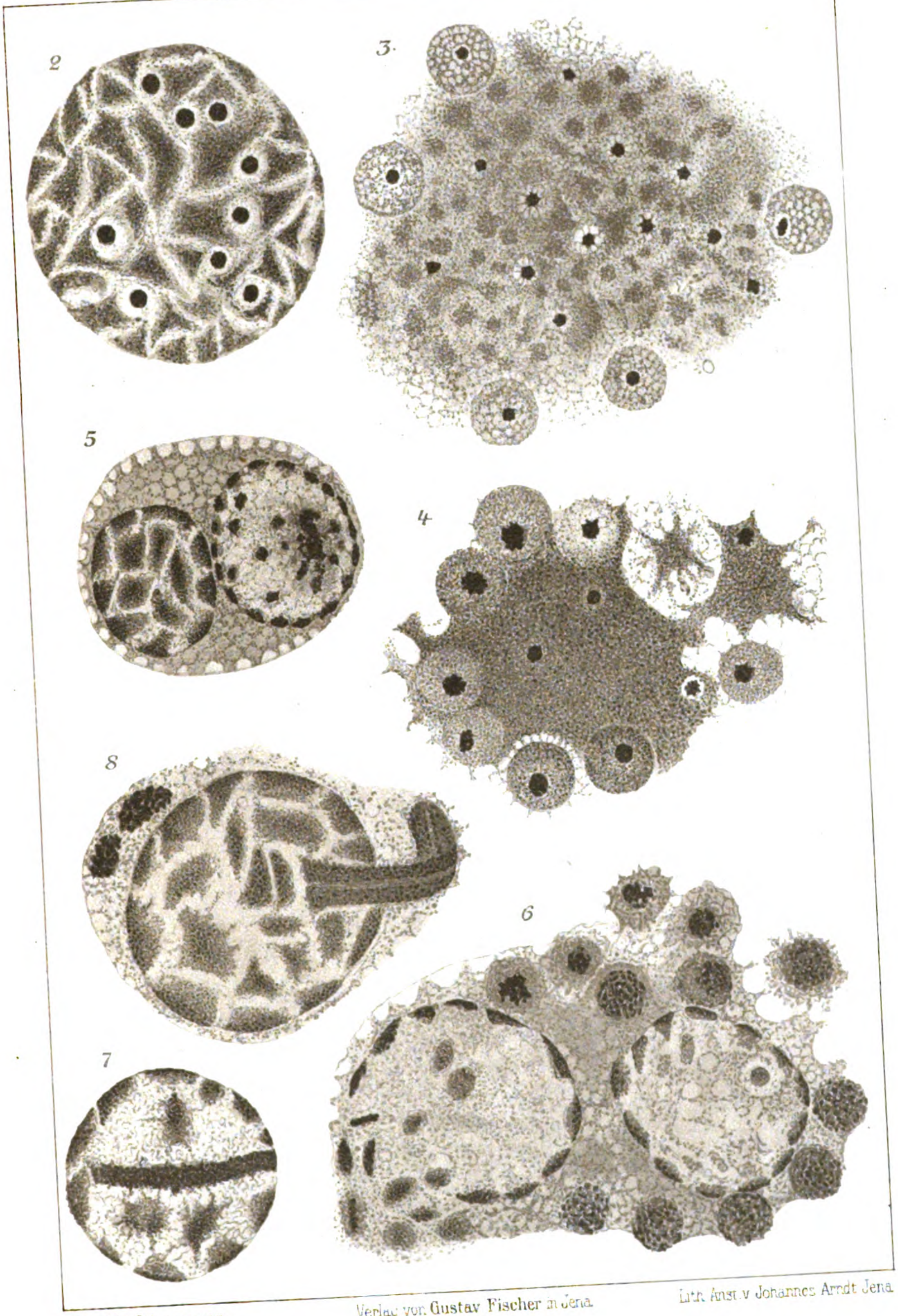
Lippert & Co. (G. Pätz'sche Buchdr.), Naumburg a/S.



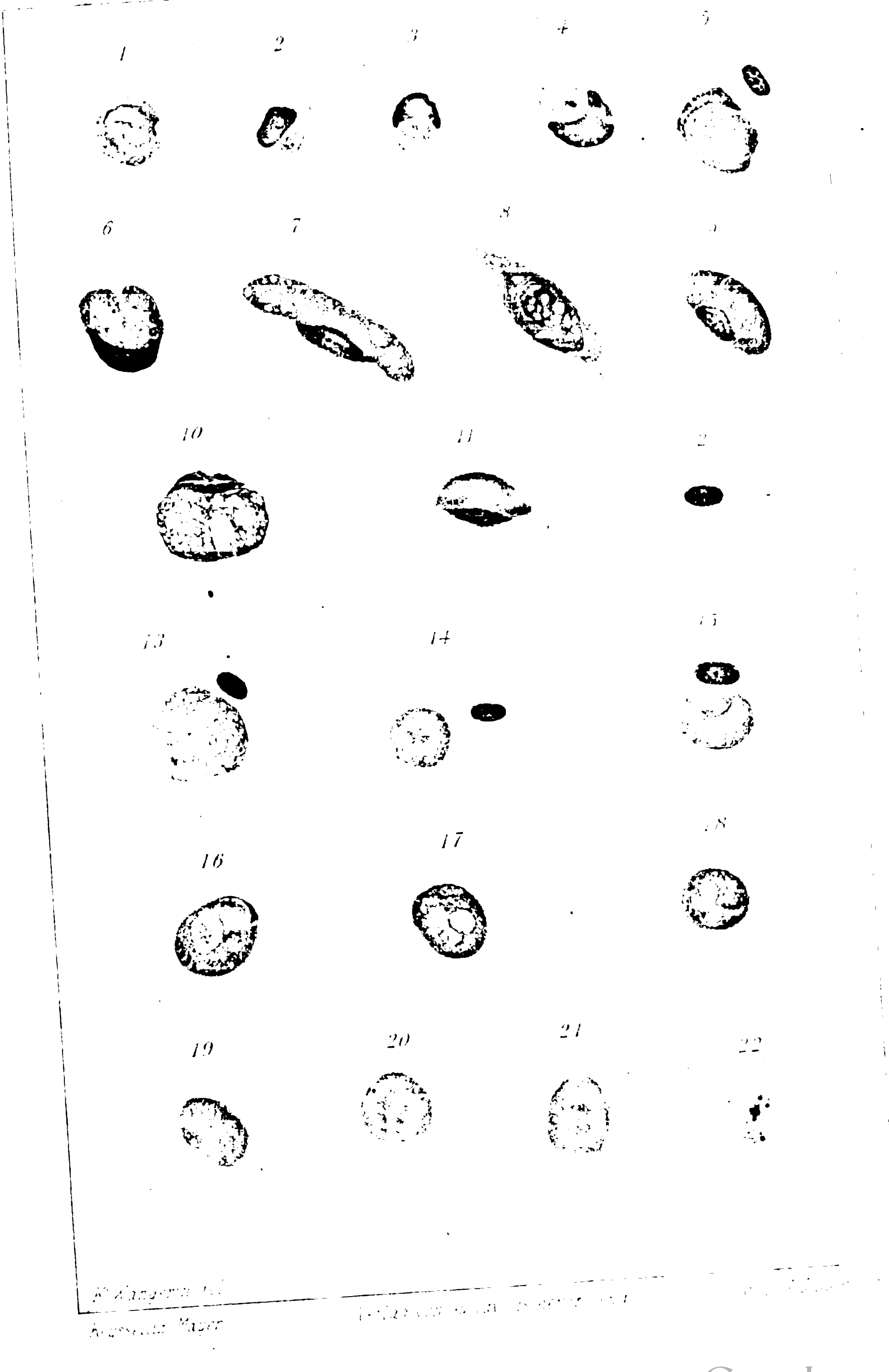
1.

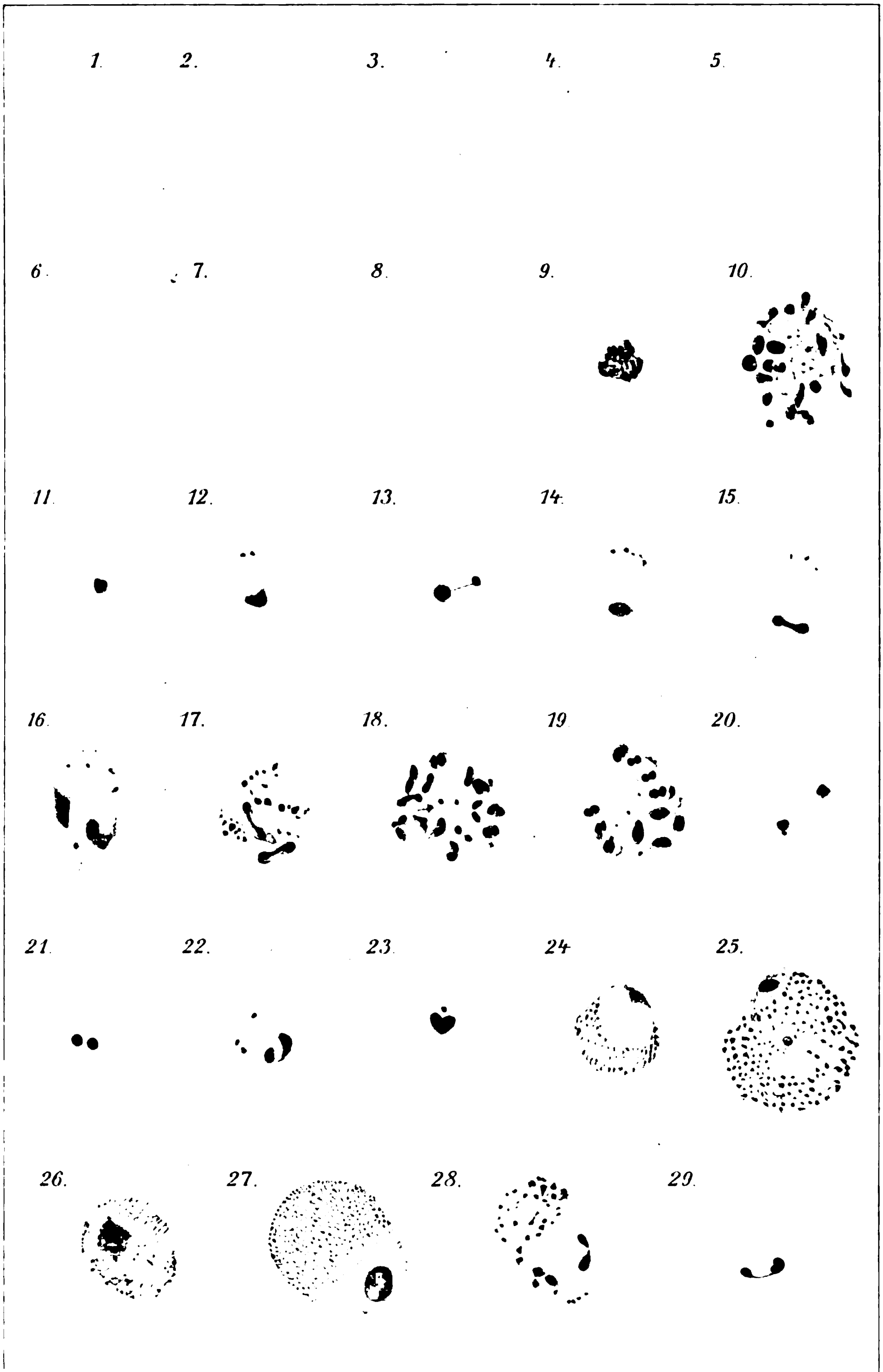
Moroff u. Stiasny.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

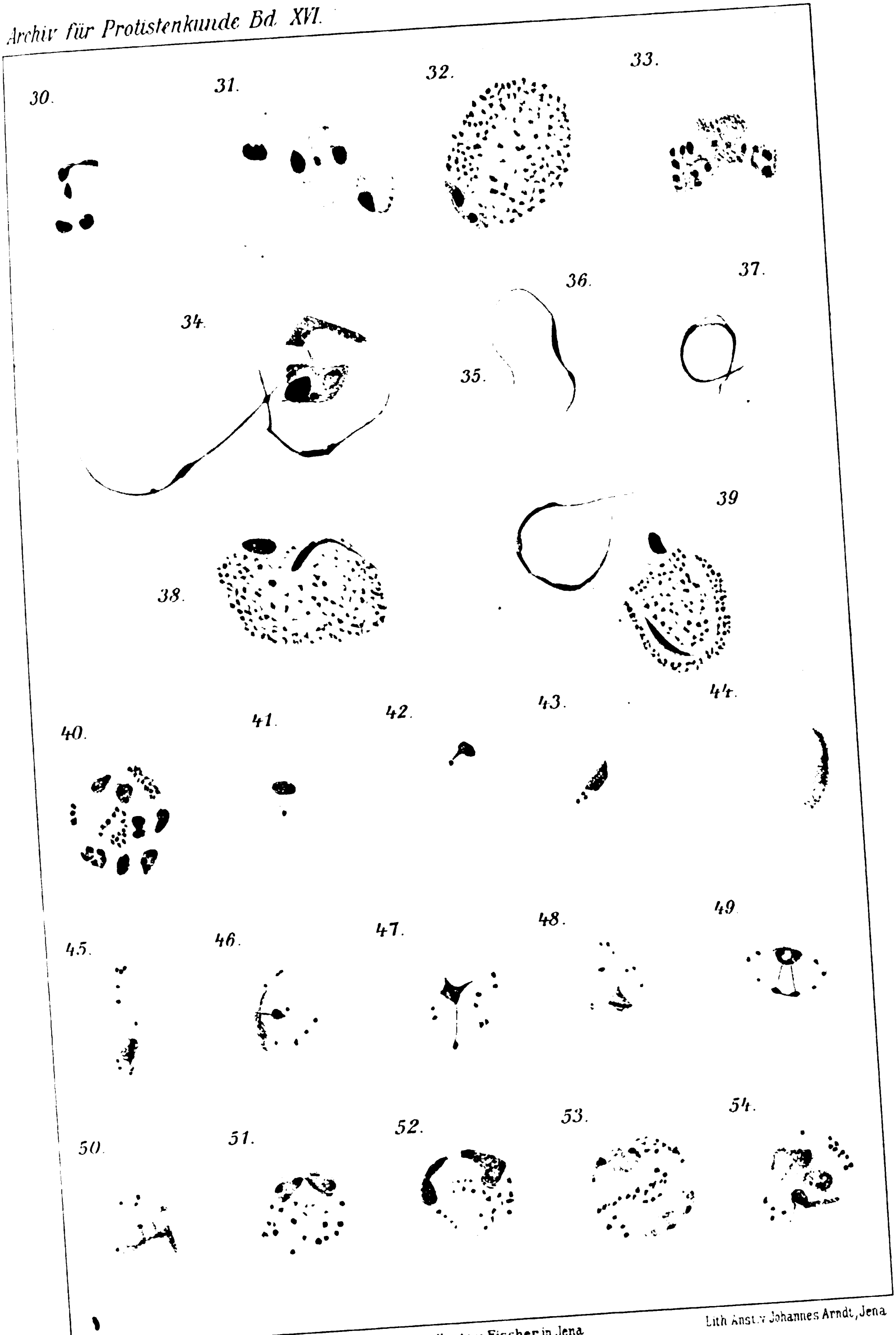


Moroff u. Stiasny gez.
Verlag von Gustav Fischer in Jena.
Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22



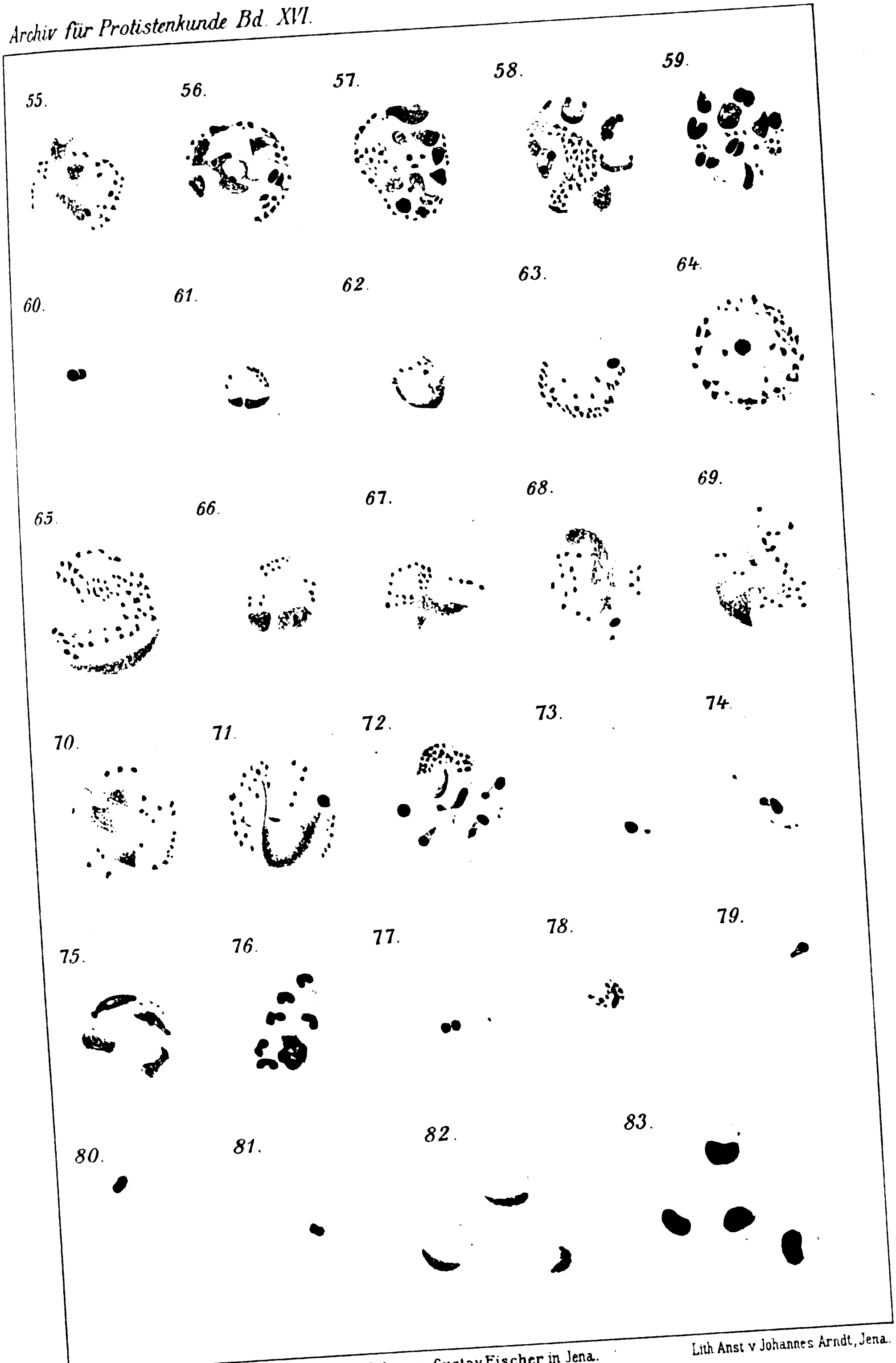
von Berenberg-Gofsler del. Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



von Berenberg-Goßler del.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena



von Berenberg-Gofsler del.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith Anst v Johannes Arndt, Jena.



Fig. 1 (6 : 1)



Fig. 4 (780 : 1)

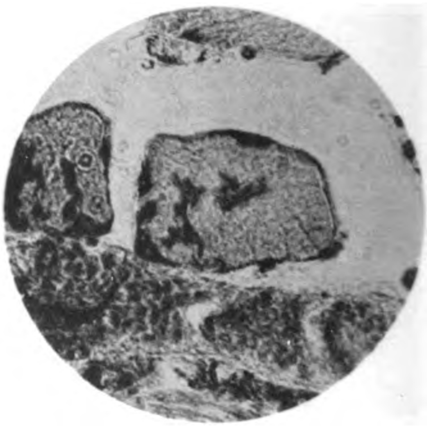


Fig. 5 (780 : 1)

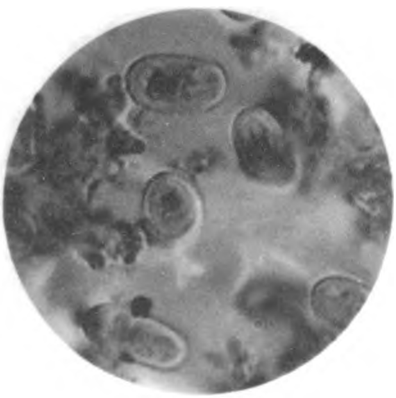


Fig. 8 (3600 : 1)

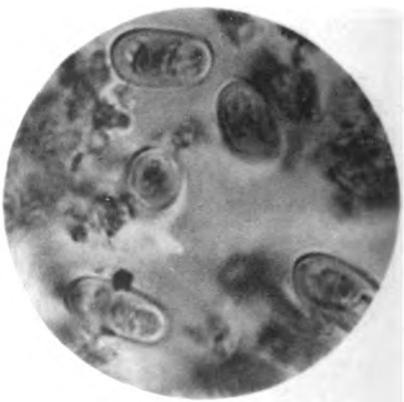


Fig. 9 (3600 : 1)

W. Stempell phot.

Verlag von Gustav

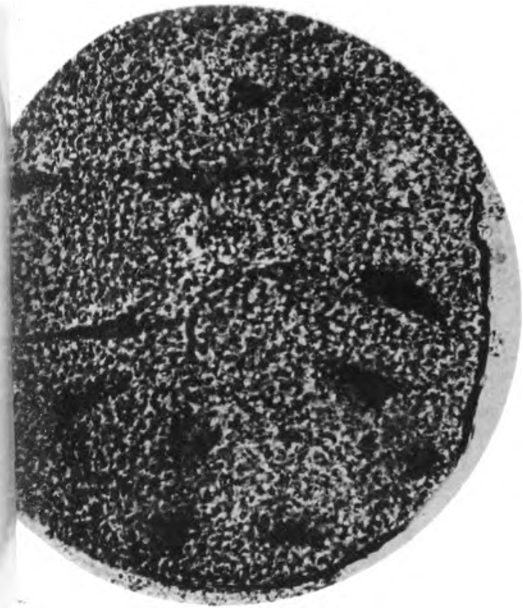


Fig. 2 (780 : 1)

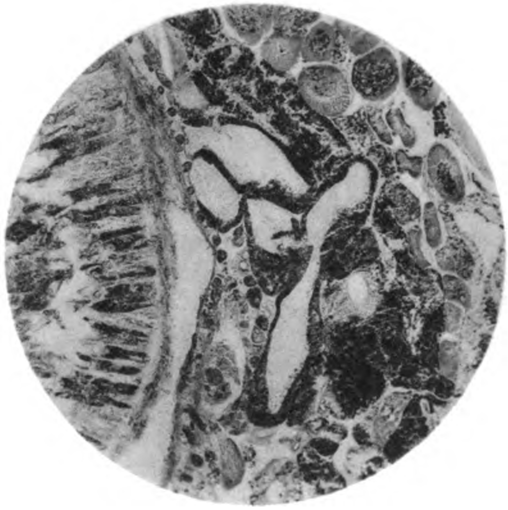


Fig. 3 (80 : 1)

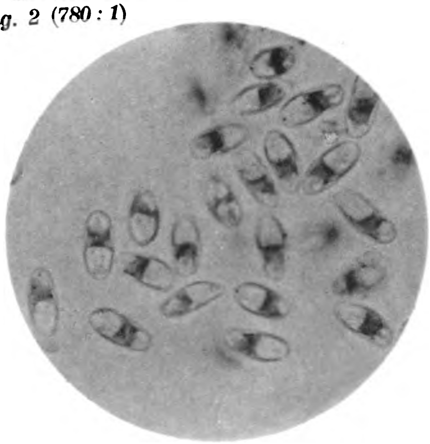


Fig. 6 (1800 : 1)

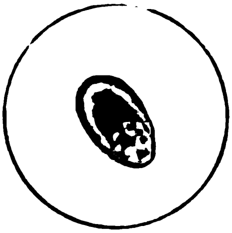


Fig. 7 (3600 : 1)

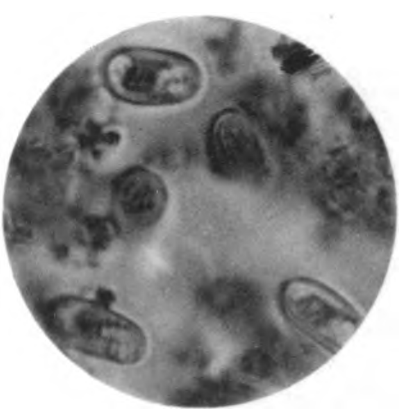


Fig. 10 (3600 : 1)

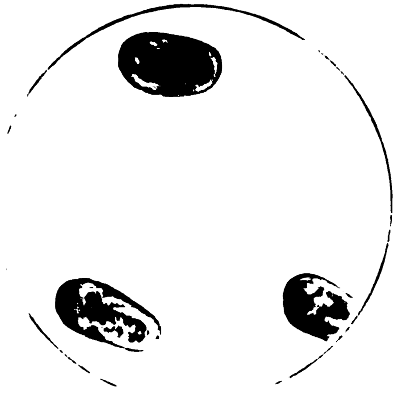


Fig. 11 (3600 : 1)

Crayondruck von J. B. Obernetter, München.

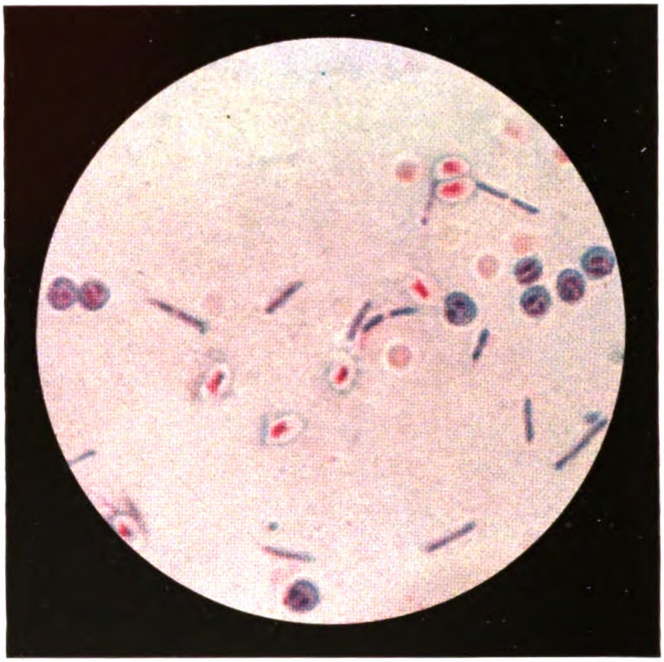


Fig. 12. (1300 : 1)

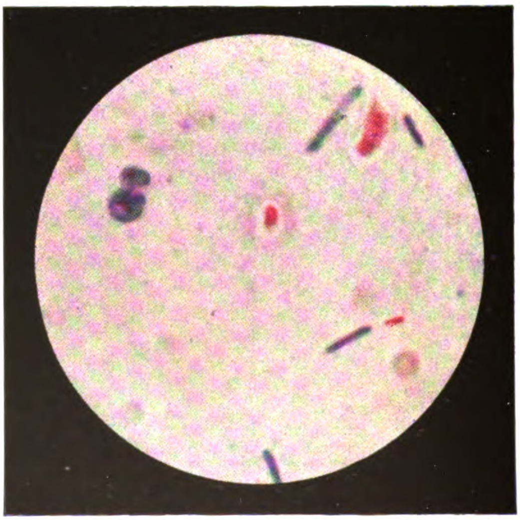


Fig. 13. (1600 : 1)

W. Stempell phot.

Verlag von GUSTAV F

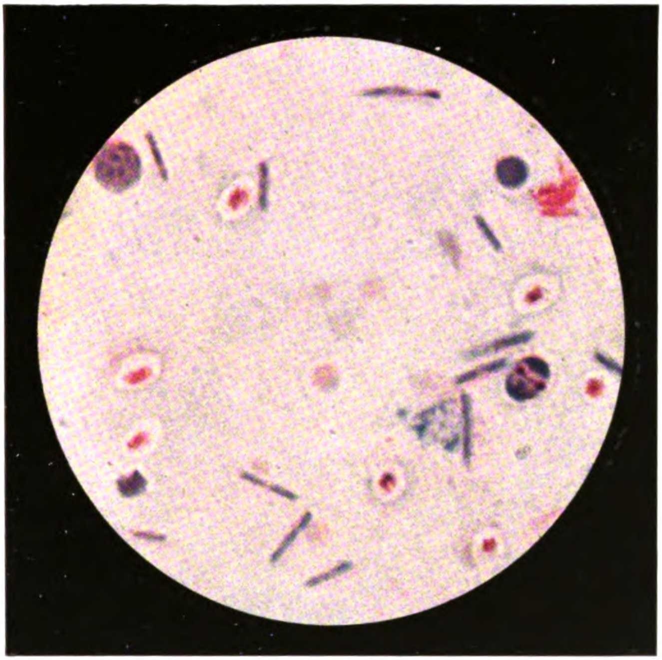
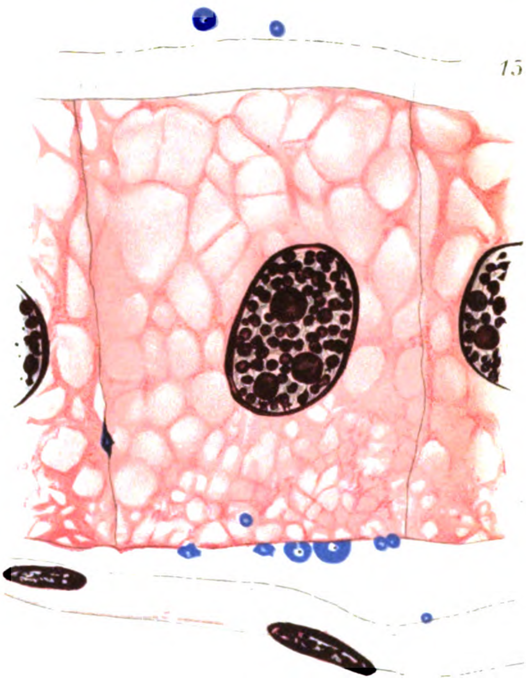


Fig. 14. (1600 : 1)

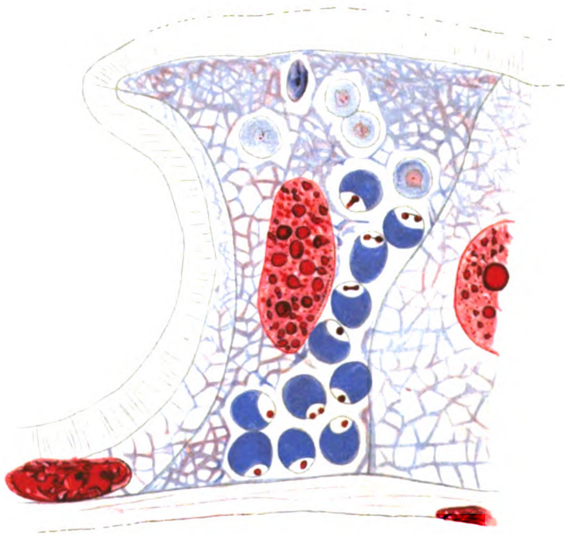
FISCHER in JENA.

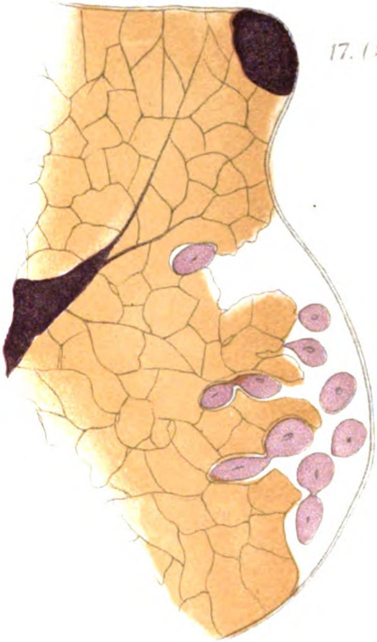
Druck von Ant. Kämpfe, Jena.

15. (2200:1)

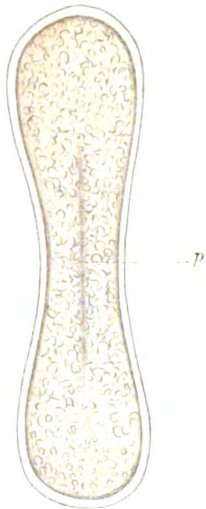


16. (2200:1)





17. (2200:1)



19. (54:1)

18. (2200:1)



ischer n.

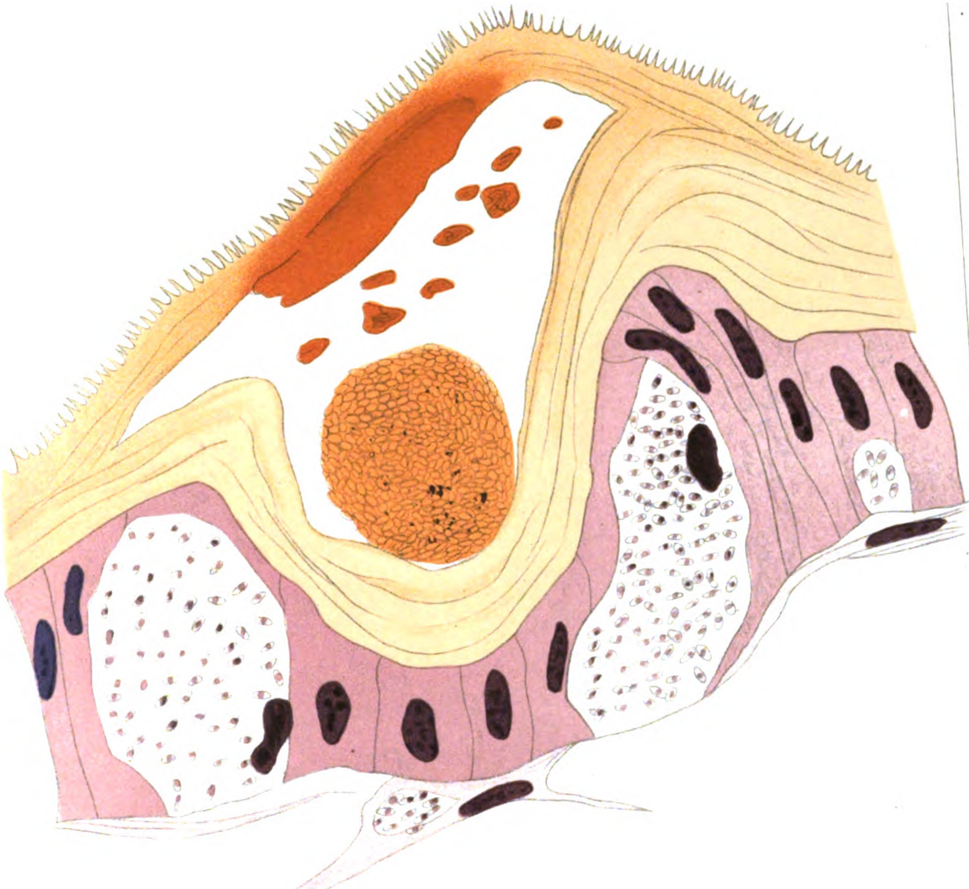
20. (2200:1)



Stempell

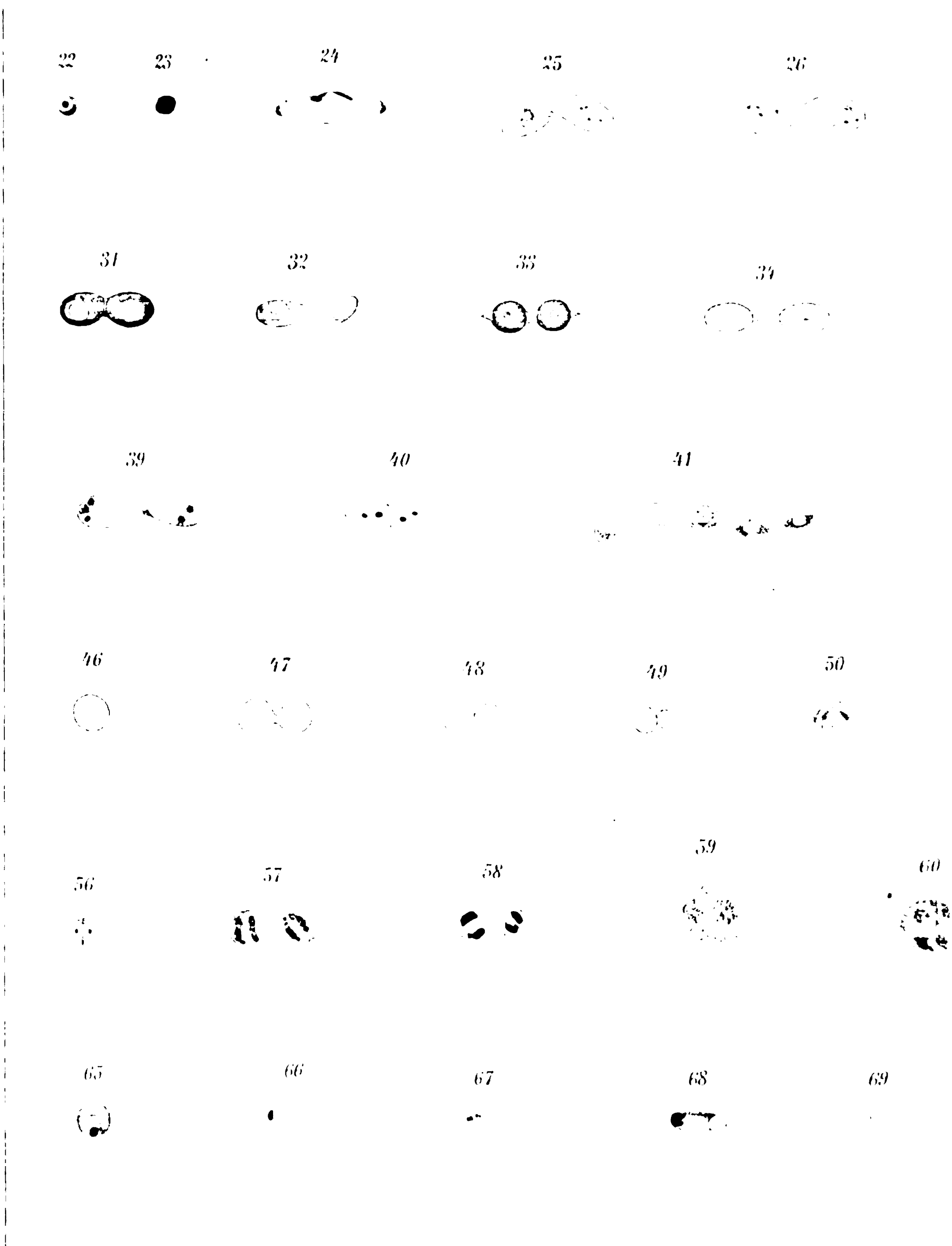
Gustav

21. (500:1)



Lith Anst v E. A. Funke, Leipzig

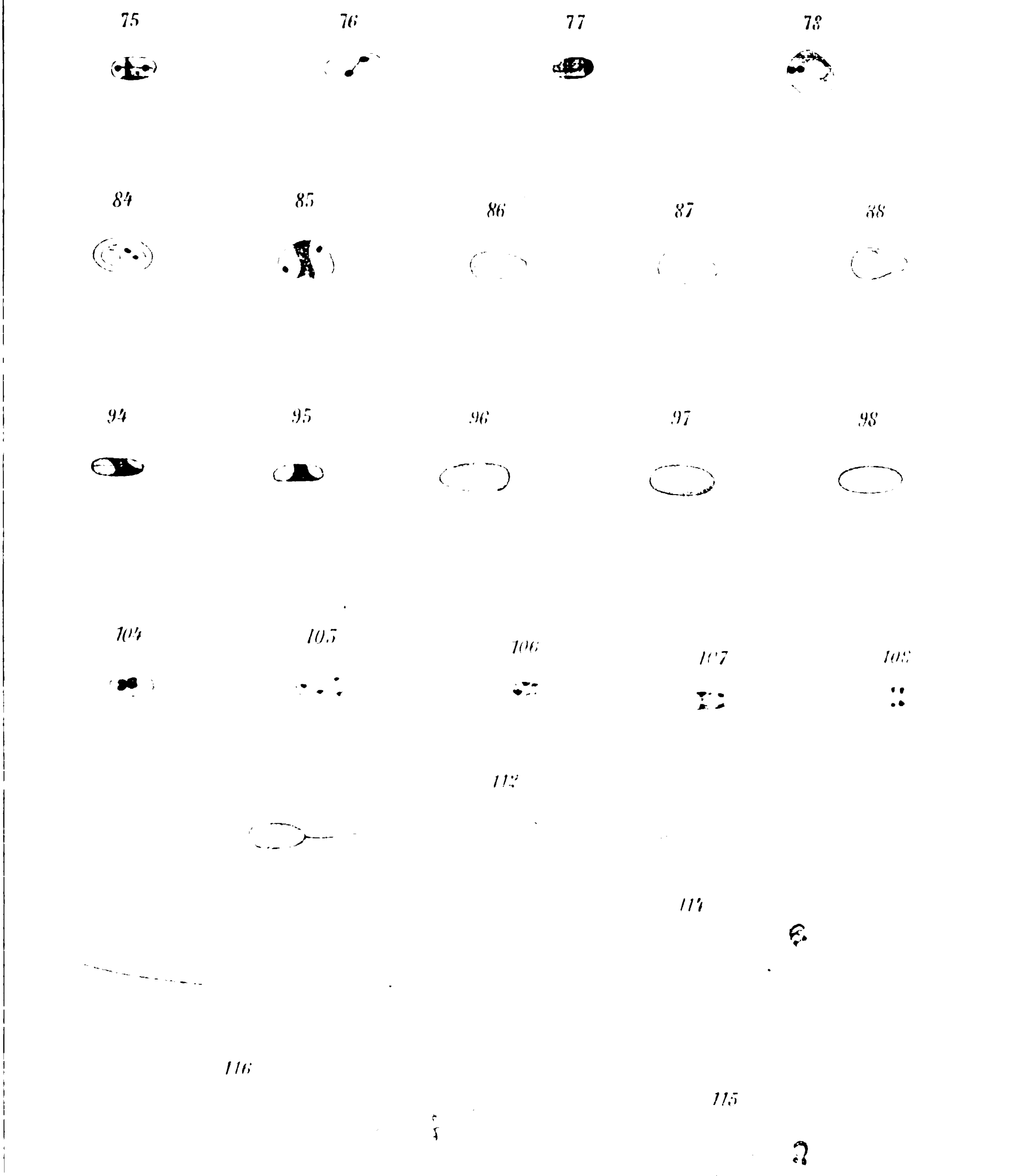
Fischer



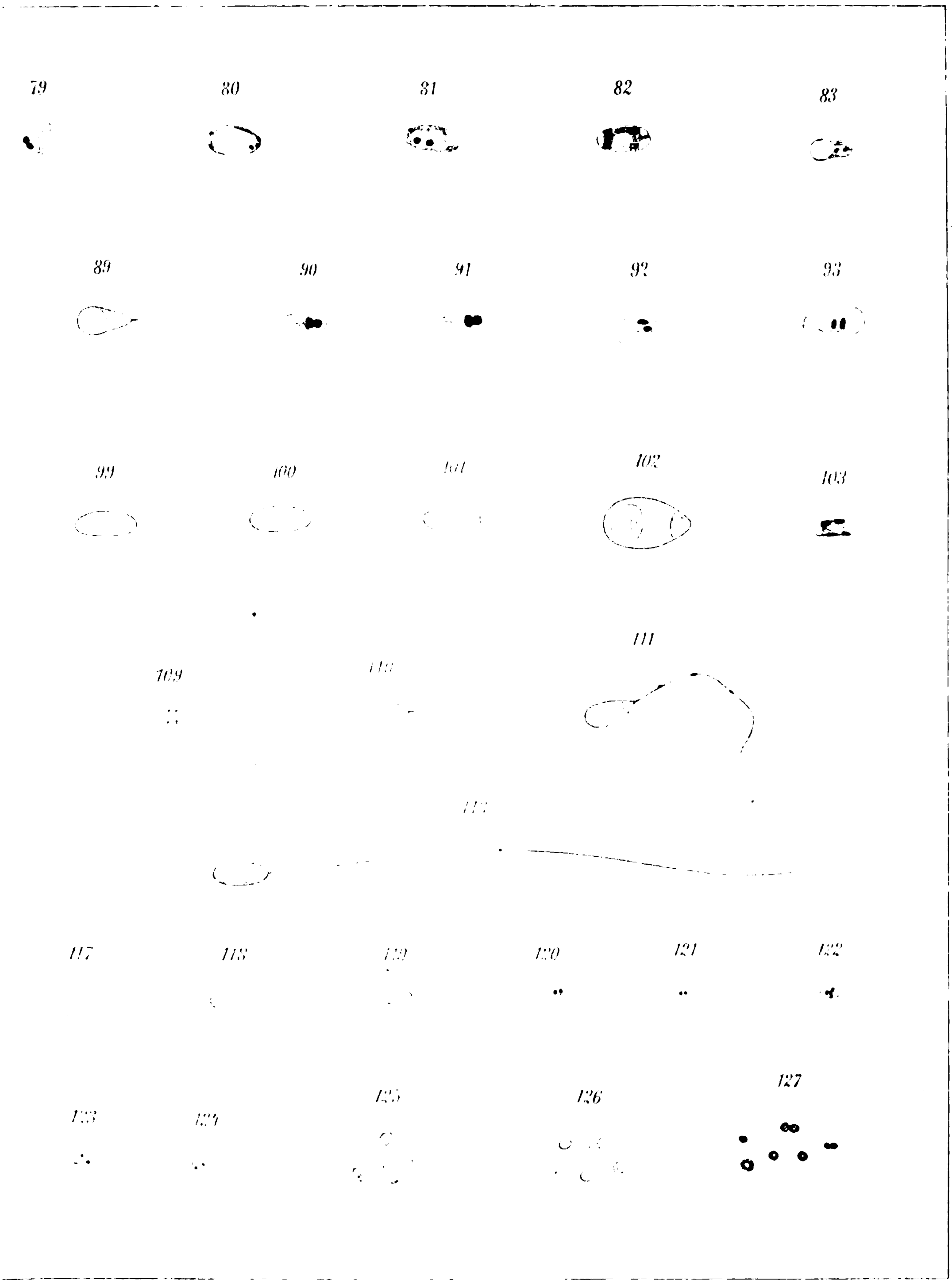
Verlag von Gustav F

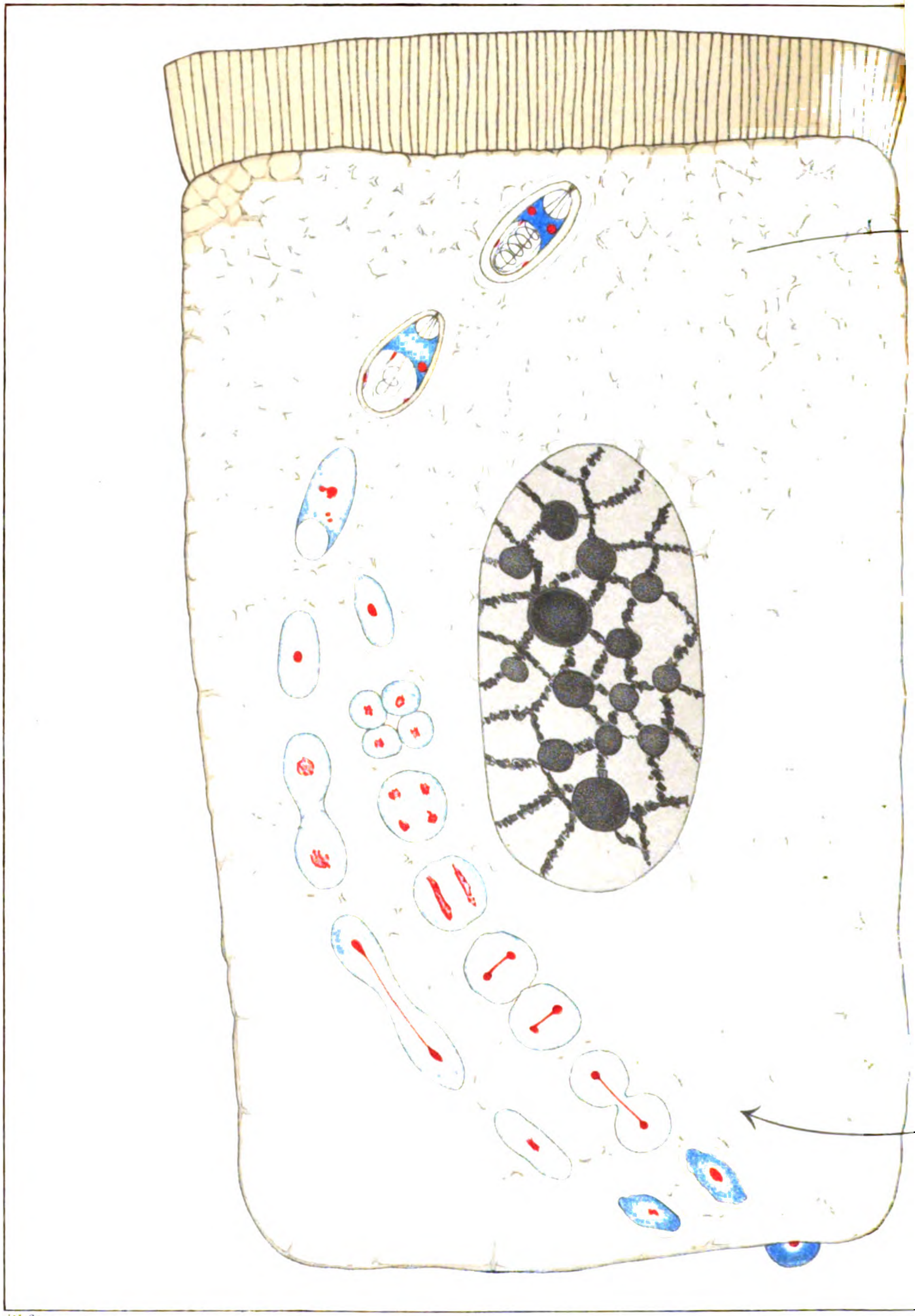

27
28
29
30
35
36
37
38
42
43
44
45
51
52
53
54
55
61
62
63
64
70
71
72
73
74

…Fischer …


75
76
77
78
84
85
86
87
88
94
95
96
97
98
104
105
106
107
108
112
114
116
115

Gustav Fi

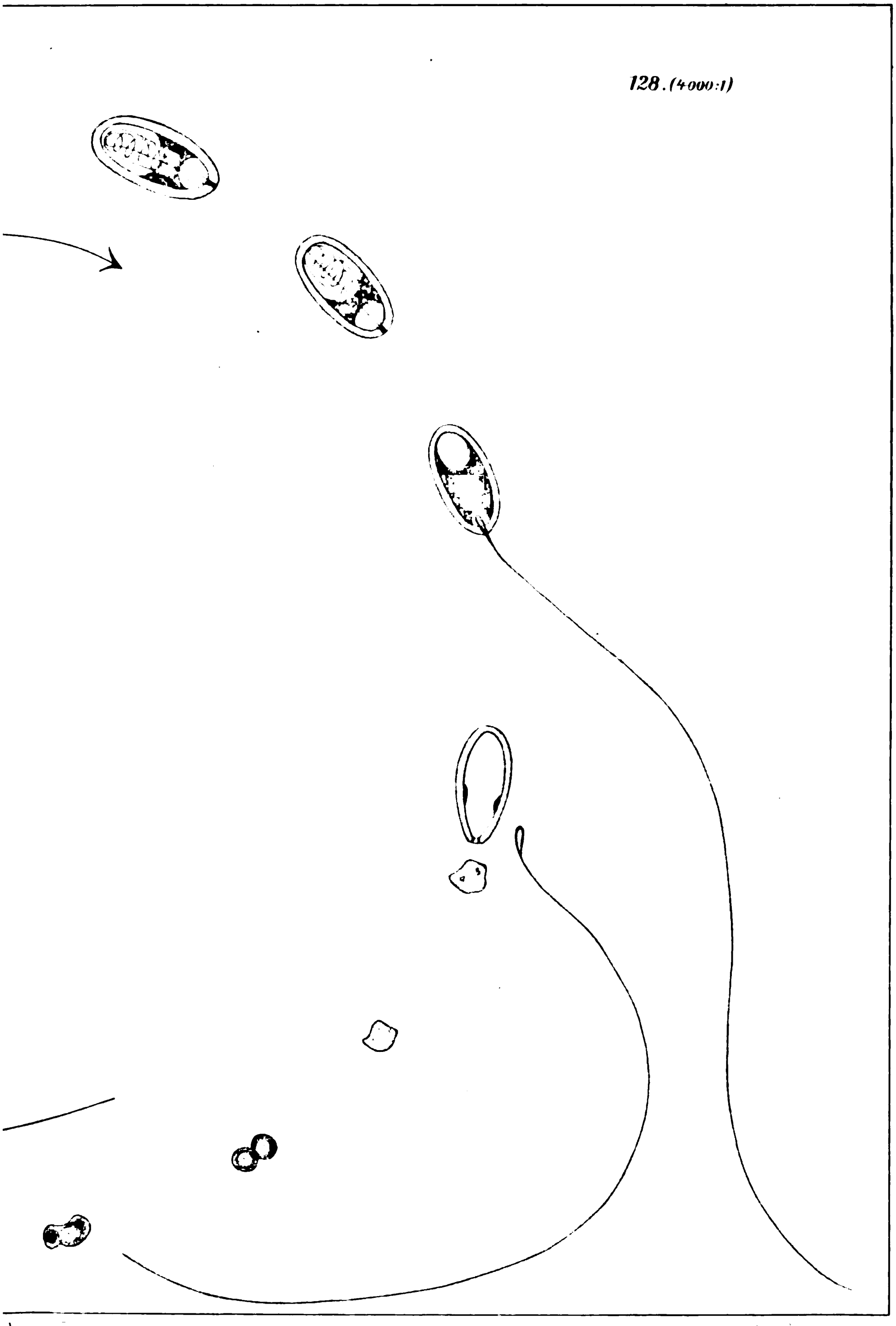

79
80
81
82
83
89
90
91
92
93
99
100
101
102
103
109
111
117
118
120
121
122
125
126
127



W. Stempell gez.

Verlag von Gusta

128. (4000:1)



.her...